UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



FITOEXTRACCIÓN DE METALES PESADOS DE UN SUELO AGRÍCOLA CON GIRASOL ORNAMENTAL Y SUSTANCIAS HÚMICAS

Por:

IRVING GIOVANNY GONZÁLEZ SALAZAR

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México Diciembre de 2011

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMIA DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Fitoextracción de Metales Pesados de un Suelo Agrícola con Girasol Ornamental
Sustancias Húmicas

Por:

IRVING GIOVANNY GONZÁLEZ SALAZAR

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de: INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

Aprobada

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor principal

Dr. Rubén Lopez Cervantes Coasesor Dr. Eladio Heriberto Cornejo Oviedo

Coasesor

Dra. Iliana M. De la Garza Rodríguez

Coasesora

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, Méxicode Agronomía
Diciembre de 2011

AGRADECIMIENTOS

A dios, por sostenerme en mis momentos de desaliento, por ser mi fortaleza, mi guía, mi luz en el camino hacia mi meta y lograrla con éxito. A mi madre María Esther Salazar Chino, con la mayor gratitud por los esfuerzos realizados para que yo lograra terminar mi carrera siendo para mí la mejor herencia eres el ser más maravilloso de todo el mundo. Gracias por el apoyo moral, tu cariño y comprensión que desde niño me has brindado, por guiar mi camino y estar junto a mí en los momentos más difíciles. A mi padre Javier González García porque desde pequeño ha sido para mí un gran hombre maravilloso al que siempre he admirado. Gracias por guiar mi vida con energía, ejemplo de sencillez, responsabilidad y humildad, esto ha hecho que sea lo que soy. Con amor, admiración y respeto.

A mi gloriosa alma terra mater por ser la mejor universidad agraria del país, su prestigio y haberme adoptado como un buitre más.

Al Ing. Javier Valdés Olivares, su esposa la señora Miriam Suarez Cárdenas, Miriam Valdés Suarez y al Ing. Javier Valdés Suarez por cobijarme como parte de su familia. Con el más sincero amor y cariño.

Agradecer profundamente al maestro y amigo Dr. Eladio Cornejo Oviedo por su incondicional apoyo e iniciativa para la realización de este trabajo, sus enseñanzas y haber compartido una de las principales y mejores experiencias durante mi estancia en la universidad y haberme transmitido ese espíritu ético de hacer las cosas, el aprender a aprender, el aprender a hacer, el aprender ser y el aprender a estar y demostrar que aunque a veces se tenga el viento en contra la perseverancia, responsabilidad, puntualidad, transparencia y fe triunfan a pesar de la adversidad, pero sobre todo por ser mi ejemplo a seguir.

También agradecer al maestro y amigo Dr. Rubén López Cervantes por compartir su valioso tiempo en la culminación de ésta tesis y compartir sus vivencias, risas, historias o anécdotas que siempre me servirán como aliento de ver una vida más feliz. Porque gracias a su apoyo y consejos, he llegado a realizar una de mis grandes metas lo cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir. Con el más sincero cariño

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, por ser un eminente maestro en la universidad, sus valiosas opiniones y el apoyo ofrecido.

A la Dr. Iliana M. de la Garza Rodríguez, Dra. Edith M. Colunga Urbina, Ing. Química Maye y al Dr. Hugo Saldarriaga Noreña por su incondicional amistad y apoyo para la determinante realización y culminación de esta investigación, ya que sin su ayuda, este trabajo no se hubiera realizado.

A la Facultad de Ciencias Químicas, en especial a los Químicos del Laboratorio de Química Analítica: Lucy, Jesús, Roberto, Ana, Dante, Christian, Chío, Julio. ¡Gracias por su amistad!

A la Ing. Kenya Zapata Ibarra por su amistad, cariño, apoyo y encaminar mi carrera con sus consejos. ¡Muchas Gracias!

A la Lic. Ana María González (la teacher) por su amistad, apoyo, entusiasmo, cariño y encaminarme al estudio de los idiomas al igual que a Erika Carrizales, a la maestra Margarita (l'enseignant de français), Das Herr Roland Herrman y Mr. David por la paciencia que tuvieron conmigo durante sus clases.

A todos.

Thank you so much, Merci Becoup, Danke schön, Muchas Gracias.

DEDICATORIAS

A mi amada madre María Esther Salazar Chino y a mi padre Javier González García por haberme dado la vida y estar presente siempre en mi mente y haber confiado en mí a pesar de la distancia, circunstancias y ser ejemplo de sencillez, humildad y responsabilidad. A mis hermanos Fco. Javier (†), Ricardo, Mayte Yuridiana, Julio César, Selina Giovanini, Martha Rubí, Rosendo, Fco. Javier, Kenia, Valeria y Fátima, mis sobrinos Santiago y Paola por su cariño y amor. A todos mis tíos, primos gracias por sus consejos y por ayudarme a poner los pies en la tierra. ¡Lo hemos logrado!

A mi alma terra mater, porque en ella tuve vivencias que marcaron mi vida, que nunca olvidare. Ahí estudie, ahí me prepare, ahí comí, ahí dormí y porque ella vio mis alegrías, mis tristezas y mis triunfos.

Al ingeniero Abimael Plascencia Rodríguez asi como a su mamá la señora Rita Rodríguez y su esposo Zacarías Plascencia por haberme impulsado en tomar la decisión de estudiar en esta noble y bondadosa universidad.

A todos mis maestros y no maestros que me transmitieron sus conocimientos, sabidurías, enseñanzas y ejemplo. Gracias a ellos tengo una formación: Alfredo Sánchez López, Eliseo González, Sandoval, Alfonso Rojas Duarte, Leobardo Bañuelos Herrera, Homero Ramírez Rodríguez, Reynaldo Alonso Velasco (†), Víctor Reyes Salas, Inocente Mata Beltrán, Valentín Robledo Torres, Alberto Sandoval Rangel, Alfonso Reyes López (†), Abiel Sánchez Arizpe, Arturo Coronado Leza, Ernesto Cerna Chávez, Luis P. Guevara Acevedo, Jerónimo Landeros, Heriberto Ríos Tapia, Luis Rodríguez Gutiérrez, María Elena Góngora Hernández, Felipa Morales Luna, Javier Moreno Álvarez, Carlos Ramos Veliz, Alfredo de la Rosa Loera, María Lourdes Hernández, Lorenzo Castro Gómez, Hugo René Flores del Valle, Martha Carrillo López, Eduardo Fuentes Rodríguez, Santos Gabriel Campos Magaña, Margarita Torres Tapia, María Elena Villarreal Torres, Raquel Olivas Salazar, Fernando Ruiz Zarate, Erasmo Acosta Guerrero, Víctor López, Román Alonso Ramos Espinoza, Teresa Arellano Flores, Ismael Alvarado Torres, Joel Vázquez, a la "Borreguita" a su esposa y a su hijo Pepe (†), Jahaziel Vázquez Álvarez, Antonio Treviño Cueto.

Sin embargo la tesis no hubiera sido posible sin la participación de toda la gente que me rodea, que me permite airear la mente cuando es necesario y me transmitieron entusiasmo y alegrías a mis amigos: Jazmín Reyna, Benjamín Fernando Moreno Ramón, David Calderón Tovar y a sus padres, Sergio Alberto Dávila Galván y a sus padres, Fernanda Calderón Tovar, Rebeca González Villegaz, Tabasco, Betty, Clara, Nikolay, Damián, Jonadad, Moisés, José M., Dorian, Erwin, Miguel, Hugo N., Sergio R., V. Armerio, Nieves, Chuy, Cruz, Fercho, Alejandro, José Fco. Lara V. (†), Víctor M., Daniel L., Ramiro, Sixto, Oscar, Gil, Ganda, Roy, Rey, Calin, Fai, Alex, Morita, Frank, Yolanda, Cristo, Marcela, Freddy, Baruk, A mis amigos: Gibram, Gerardo, Luis Á., Víctor Hugo, Emilio, Cesar, Sergio, Jesús R., Josué, Adán, Marco, Mario, Pepe y a sus papás, Hugo, Yankel, a toda la raza por darme esas palabras de ánimo y entusiasmo. Al Pona, Dante, Oliver, Fabio, Dani, Leo, Padilla, Raudales, Tayson, Spider. A los camaradas de la mesereada: Alfredo N., Ángel, Aquiles, Chino, Chon.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Objetivo	5
Hipótesis	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Contaminación del suelo	6
Efecto de los contaminantes del suelo	6
Remediación de Suelos Contaminados	7
Tratamientos Físico-Químicos	7
Remediación electrocinética	7
Inundación o lavado del Suelo	8
Extracción química	8
Vitrificación (fusión de suelos)	8
Tratamientos biológicos (Biorremediación)	8
Biorremediación microbiana	9
Biosorción (inmovilización microbiana de metales)	9
Biomineralización	9
Biolixiviación (movilización microbiana de metales)	9
Biotransformación	10
Fitorremediación	10
Fitoestabilización	11
Fitovolatilización	11
Fitoextracción	11
Agentes quelatantes	12
Los Ácidos Fúlvicos	13

MATERIALES Y MÉTODOS	14
Etapa 1	14
Etapa 2	21
Etapa 3	23
Etapa 4	24
Etapa 5	25
RESULTADOS	26
Raíz	26
Peso fresco	26
Peso seco	26
Contenido de Zn	26
Contenido de Cd	27
Contenido de Pb	28
Tallo	29
Peso fresco	29
Peso seco	29
Contenido de Zn	30
Contenido de Cd	31
Contenido de Pb	32
Hoja	33
Peso fresco	33
Peso seco	33
Contenido de Zn	34
Contenido de Cd	35
Contenido de Pb	36
Flor	37
Peso fresco	37
Peso seco	37
Contenido de Zn	37
Contenido de Cd	38
Contenido de Pb	40

DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	50

ÍNDICE DE CUADROS

		Pagina
Cuadro 1	Contenido de metales y metaloides en suelos	6
Cuadro 2	Umbrales de concentración de metal en planta utilizados como criterio de hiperacumulación, y número de taxones y familias de plantas hiperacumuladoras	12
Cuadro 3	Concentraciones de referencia totales (CR _T) por tipo de uso de suelo establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-1996	15
Cuadro 4	Número de muestras por Ha según la NOM-147- SEMARNAT/SSA1-2004. Resultados del análisis por el laboratorio de química	20
Cuadro 5	analítica de la facultad de ciencias químicas de la	21
Cuadro 6	Universidad Autónoma de Coahuila Resultados del análisis por el laboratorio Intertek Testing Services de México, S.A. de C.V.	21

	ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1	El Valle de Mezquital al norte de la ciudad de México	15
Figura 2	Mapa del sistema de irrigación con aguas residuales en el Valle del Mezquital, México	16
Figura 3	Áreas de influencia directa sobre el DR03	16
Figura 4	Fotografía del rancho donde se realizó el muestreo	17
Figura 5	Ubicación del municipio de Tlahuelilpan	18
Figura 6	Terreno del Rancho Las Palmas	19
Figura 7	Ubicación del invernadero	22
Figura 8	Establecimiento de las macetas	22
Figura 9	Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos	23
Figura 10	Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos	23
Figura 11	Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos	23
Figura 12	Ácido fúlvico de la empresa CBMG	23

	Contenido de zinc en la raíz de girasol ornamental, de	
Figura 13	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	27
J	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de cadmio de raíz de girasol ornamental,	
Figura 14	de flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	28
_	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de plomo de raíz de girasol ornamental, de	
Figura 15	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	29
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de peso seco de tallo del girasol	
Figura 16	ornamental, de flor de corte "Sunbright" y flor para	30
	maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos	
	de Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de zinc en el tallo de girasol ornamental, de	
Figura 17	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	31
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de cadmio en tallo de girasol ornamental,	
Figura 18	de flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	32
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de plomo de tallo de girasol ornamental, de	
Figura 19	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	33
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de zinc en la hoja de girasol ornamental, de	
Figura 20	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	34
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	

Leonardita en un suelo contaminado

	Contenido de cadmio de noja de girasol ornamental,	
Figura 21	de flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	35
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de plomo de hoja de girasol ornamental, de	
Figura 22	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	36
J	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de zinc en la flor de girasol ornamental, de	
Figura 23	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	38
J	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de cadmio de flor de girasol ornamental, de	
Figura 24	flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	39
J	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	
	Contenido de plomo en la flor de girasol ornamental,	
Figura 25	de flor de corte "Sunbright" y flor para maceta	40
	"Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de	
	Leonardita en un suelo contaminado	

I. RESUMEN

La fitoextracción, es una tecnología biológica utilizada para la restauración de los suelos contaminados con metales pesados mediante el uso de especies de un grupo de plantas denominadas como "plantas hiperacumuladoras". En este estudio la especie empleada para la fitoextracción fue el girasol ornamental (Helianthus annus L.), utilizando las variedades "Sunbright" y "Alpaccino". Para potencializar eficientemente la tecnología de fitoextracción propuesta se utilizaron las dosis de 2 ml L⁻¹, 4 ml L⁻¹, 6 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos comerciales como agentes quelatantes y un testigo absoluto al cual solo se le aplicó agua. Otras variables evaluadas fueron el peso fresco y peso seco de la planta y la acumulación de los metales en los órganos vegetales. El requerimiento mínimo de contaminación marcado para la restauración del suelo, según la NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, es si esta sobrepasa los 37 mg kg⁻¹ de Cd y 400 mg kg⁻¹ de Pb en el suelo. El suelo agrícola contaminado proviene del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo, perteneciente al distrito de riego 03 (DR03), el más antiguo del mundo. El análisis de una muestra compuesta del suelo, mediante espectrofotometría de absorción atómica con flama demostró que este suelo contenía 184.9426 mg kg⁻¹ de Zn, 38.76 mg kg⁻¹ de Cd y 0.85 mg kg⁻¹ plomo.

El suelo se colocó dentro de macetas de polietileno de 5 kilogramos bajo condiciones de invernadero. Los resultados de estas pruebas, demuestran que puede removerse del suelo hasta 830.30 mg kg⁻¹ de zinc, 17.8 mg kg⁻¹ de cadmio y 98 mg kg⁻¹ de plomo como los valores más altos para la variedad "Sunbright"; sin embargo, para la variedad "Alpaccino" los valores que más sobresalieron fueron 1464.70 mg kg⁻¹ de zinc, 12 mg kg⁻¹ de cadmio y 353.33 mg kg⁻¹ de plomo. Se concluye que los ácidos fúlvicos comerciales, de forma general, potencializan la fitoextracción de zinc, cadmio y plomo del suelo contaminado, en función del tiempo; mientras que de forma particular, 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico comercial para fitoextraer zinc y 4 ml L⁻¹ de ácido fúlvico comercial para fitoextraer Cd y Pb, lo efectuaron.

Palabras clave: Fitoextracción de suelos, Helianthus annus L., ácidos fúlvicos, metales pesados.

II. INTRODUCCIÓN

El término de metal pesado refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas. Los ejemplos de metales pesados o algunos metaloides, incluyen el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), y plomo (Pb), entre otros (Lucho *et al.*, 2005a).

De los más de 90 elementos que existen naturalmente, 53 son considerados metales pesados. La contaminación del ambiente por metales pesados se torna una amenaza tanto para el hombre como para la biosfera, impidiendo el desarrollo de la agricultura y perjudicando a los ecosistemas (Benavides *et al.*, 2005).

Actualmente la contaminación de suelos por metales pesados está siendo considerada uno de los problemas ambientales más serios principalmente en áreas que tienen una gran actividad antrópica. Las principales fuentes antrópicas de contaminación de suelos por metales pesados lo constituyen: fertilizantes, pesticidas, aguas de riego contaminada, combustión de carbón y aceite, gases emitidos por vehículos de combustión interna, incineración de residuos urbanos e industriales, minería y fundiciones (Amaral et al., 1992).

Las tecnologías tradicionales para la recuperación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPTs) utilizan métodos de ingeniería y tratamientos químicos. Los métodos de ingeniería consideran la excavación y los rellenos sanitarios, lavado del suelo, tratamientos térmicos y eléctricos. Los tratamientos químicos incluyen la adición de fosfatos, sustancias altamente adsorbentes (zeolitas, aminosílicatos, etc.), encalado y agentes quelatantes (Gadd, 1993). Estas alternativas tienen limitaciones económicas y de riesgo (Vangronsveld y Cunningham, 1998). Las tecnologías biológicas involucran el uso de microorganismos y plantas para remover, contener o retener contaminantes ambientales sin causar daño (Cunningham y Lee, 1995). Las tecnologías biológicas se han utilizado para el tratamiento de varios tipos de contaminantes del suelo y del agua, como: hidrocarburos, plaguicidas, sustancias

radiactivas y otro tipo de contaminantes orgánicos; sin embargo, su uso en la remediación de suelos contaminados con EPTs, como son los metales pesados y metaloides, es de reciente aplicación (Bollag y Bollag, 1995).

Dentro de las técnicas biológicas encontramos la biorremediación apareciendo 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 (Rao *et al.*, 1996; Garbisu y Alkorta, 1997; Chaney *et al.*, 1999). Dentro de la biorremediación encontramos a la fitorremediación (el prefijo fito-significa planta) es una estrategia que se utiliza en la remediación de suelos contaminados (Chaney, 1997)

En la fitorremediación aparece la fitoextracción en donde la concentración del contaminante en el suelo disminuye por la marcada extracción de la planta. Esta tecnología se basa en la particularidad de que algunas plantas poseen mecanismos para absorber, translocar y tolerar cantidades significantes del contaminante que para otras especies serían tóxicas. Por esta razón, estas plantas pueden sobrevivir en ambientes fuertemente contaminados, donde otras plantas sin estos mecanismos morirían (Cunningham y Lee 1995). Algunas plantas solamente no son capaces de tolerar elevadas concentraciones de metales pesados, sino que tienen la capacidad de hiperacumularlos. Alrededor de 400 especies de plantas se encuentran descritas como hiperacumuladoras de metales pesados, siendo definidas como plantas que pueden acumular más de 0.1% de su peso seco de Ni, Co y Pb, más de 1% de Zn y 0,001% de su peso seco de Cd (Baker y R.R. Brooks, 1989). Las plantas ideales para ser usadas en la fitorremediación deben presentar: a) rápido crecimiento y desarrollo, b) elevada producción de biomasa, c) sistema radical bien desarrollado, d) ser de fácil cultivo, e) tolerar y acumular elevadas concentraciones de metales pesados en su parte aérea (Yang X, et al., 2005).

Asimismo, muchas de las estrategias de la biorremediación son competitivas en términos de costo y eficiencia sobre un sitio contaminado (Semple *et al.*, 2001). El término se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos

(plantas, bacterias, hongos, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de la actividad catabólica de los organismos y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren *et al.*, 1997).

Los ácidos fúlvicos tienen bajo peso molecular, alto contenido de oxigeno, 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 oxigeno de los ácidos fúlvicos puede ser considerado de gran manera, como grupos funcionales (-COOH, OH. C= O), unidos a cadenas alifáticas y ciclos aromáticos. El girasol (*Helianthus annus* L.) es una especie que absorbe los metales pesados en mayor cantidad acumulándose más 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 radioactivos (Christie *et al.*, 2004; Reeves, 2003; Davies *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 1999; Kumar *et al.*, 1995).

OBJETIVO.

Determinar la capacidad de extracción de zinc, cadmio y plomo de dos variedades de girasol ornamental (*Helianthus annus* L.), tratadas con sustancias fúlvicas de leonardita.

HIPÓTESIS.

Los ácidos fúlvicos de leonardita y el girasol ornamental (*Helianthus annus* L.), tienen efectos positivos en la extracción de zinc, cadmio y plomo de un suelo agrícola contaminado.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

Contaminación del suelo

Un suelo contaminado es aquel donde se encuentran presentes uno o más materiales peligrosos y/o residuos de índole tal que pueden construir un riesgo para el ambiente y la salud humana (Medina *et al.*, 2001).

La contaminación antrópica del suelo aparece cuando una sustancia está presente a concentración superior a sus niveles naturales y tiene un impacto negativo en alguno o todos los constituyentes del mismo. Los niveles promedio de concentración de metales pesados y metaloides en el suelo se anotan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Contenido de metales y metaloides en suelos.

	Contenido	Contenidos en	Límites de
Elemento	promedio	suelos ricos en el	acuerdo a la
	(mg kg ⁻¹) ^a	elemento ^b	NOM-147 ^c
Cd	0.097	20-800	37
Pb	37-42	>1%	400
Zn	<3-709	>1%	

^a He et al. 2005.

Efecto de los contaminantes del suelo

El suelo se puede degradar al acumularse en él sustancias a unos niveles tales que repercuten negativamente su comportamiento. Los efectos desfavorables son (Porta et al., 1994):

- 1. Destrucción del poder de autodepuración biológica normales, al superarse la capacidad de aceptación del suelo.
- 2. Disminución en el crecimiento normal de los microorganismos del suelo, o bien alteración de su diversidad.
- 3. Disminución del rendimiento de los cultivos con posibles cambios en la composición de los productos con riesgo para la salud de los consumidores.

^b Por contaminación o por efecto del material madre de donde se formó el suelo.

^c NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Los valores anotados son para uso agrícola.

- 4. Contaminación de las aguas superficiales y freáticas por procesos de transferencia.
- 5. Disminución de las funciones de soporte de actividades de esparcimiento. Los espacios contaminados presentan problemas de salubridad para los usuarios.

Remediación de Suelos Contaminados

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. Estos métodos son muy radicales y 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).

Tratamientos Físico-Químicos

Este tipo de tratamientos, aprovecha las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Las tecnologías fisicoquímicas incluyen tres estrategias básicas de acción sobre el contaminante: destrucción, extracción e inmovilización. Entre las principales ventajas de los tratamientos fisicoquímicos, se encuentran: a) efectivos en cuanto a costos; b) pueden realizarse en periodos cortos; c) el equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería. Algunas desventajas de estos tratamientos son: a) los residuos generados por técnicas de separación deben tratarse o disponerse, lo que incrementa costos y necesidad de permisos; b) los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes, lo que implica la necesidad de sistemas de recuperación (Volke y Velazco, 2002).

Remediación electrocinética

Durante la aplicación de una corriente eléctrica, se crea un campo eléctrico entre los electrodos, en donde las sustancias solubles (contaminantes) tienden a migrar hacia uno de los electrodos, en función de sus cargas, polaridad y movilidad (Ko *et al.*, 2000).

Inundación o lavado del Suelo

La inundación del suelo (Soil flushing) también conocida como lavado del suelo (Soil washing) (US EPA, 1996) consiste en inundar el suelo contaminado con una solución acuosa, llevando los contaminantes hasta unos sistemas de extracción que permiten el paso de la solución de lavado; esto junto las propiedades de ciertos aditivos (que pueden contaminar el agua subterránea) puede limitar la eficacia general del proceso (US EPA, 1997).

Extracción química

La extracción química no destruye los contaminantes, sino que los separa de suelos, lodos y sedimentos, para así reducir el volumen del material a tratar. La tecnología utiliza un químico de extracción y difiere del lavado de suelos que generalmente utiliza agua o agua con aditivos. Durante el proceso, el agente de extracción se bombea continuamente fuera del tanque de mezclado. Cuando se completa la extracción el suelo se trasfiere a un sistema en el cual se enjuaga con agua para eliminar los metales y el ácido de esta manera los metales se encuentran en una forma potencialmente conveniente para su recuperación (Van Deuren *et al.,* 1997).

Vitrificación (fusión de suelos)

La vitrificación es un proceso de solidificación /estabilización, ya que convierte los residuos a formas estructuralmente más estables, con un potencial reducido para la migración de contaminantes al medio ambiente. (Becerril y Navarrete, 1993).

Tratamientos biológicos (Biorremediación)

La biorremediación de un suelo implica su descontaminación por vía biológica. En el caso de sitios contaminados con metales, los microorganismos pueden modificar su movilidad en el ambiente a través de cambios en sus características físicas y químicas (Lovley y Coates, 1997).

Este tipo de tratamientos son: a) efectivos en cuanto a costos; b) tecnologías más benéficas para el ambiente; c) los contaminantes generalmente son destruidos; d) se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior. Sin embargo, entre sus desventajas destacan: a) mayores tiempos de tratamiento; b) es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos; c) no pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano (Volke y Velazco, 2002)

Biorremediación microbiana

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

Biosorción (inmovilización microbiana de metales)

La biosorción es la separación pasiva de metales y metaloides por interacciones con material biológico vivo o muerto (Barkay y Schaeger, 2001). Implica mecanismos físicos-químicos por los que las especies metálicas son absorbidas y/o acomplejadas en biomasa o productos microbianos (Gadd, 2000).

Biomineralización

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

Biolixiviación (movilización microbiana de metales)

Es utilizada para la extracción de metales a partir de minerales y/o concentrados que los contienen. La recuperación a partir de minerales de azufre o de hierro, se basa en la actividad de bacterias quimiolitotróficas que oxidan hierro y azufre (hierro- y sulfa-oxidantes, respectivamente), *Thiobacillus ferrooxidans*, *T. thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, las cuales convierten sulfuros metálicos insolubles (SO) a sulfatos solubles y ácido sulfúrico (Bosecker, 2001). Esta disolución hace que los metales

puedan recuperarse fácilmente de ambientes contaminados y suelos superficiales, usando estrategias de remediación de bombeo-tratamiento (Lovley y Coates, 1997).

Biotransformación

Para reducir la respuesta tóxica de una sustancia en un organismo hay que disminuir la cantidad de sustancia en forma activa (tóxica) y el tiempo de permanencia de la misma en el sitio de acción, incrementando la polaridad ya que ello aumenta la difusibilidad del tóxico y por tanto puede incrementar la velocidad de excreción. Además, muchas sustancias tóxicas que ven incrementada su polaridad se convierten en sustratos accesibles para posteriores reacciones de detoxificación, reacciones que, por otra parte, no serían posibles de no incrementar la polaridad. Con frecuencia pues, se trata de convertir un xenobiótico (compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio) no polar en un compuesto soluble en agua. Estas reacciones se agrupan en dos conjuntos denominados Biotransformación Fase I y Biotransformación Fase II:

Fase I. Biotransforma los xenobióticos convirtiéndolos en substratos de los enzimas de la Fase II, al mismo tiempo que los hace más hidrófilos.

Fase II. Agrega un grupo polar de tamaño relativamente grande a los productos de las reacciones de la Fase I, o a los xenobióticos originales que contienen los grupos funcionales apropiados para ser substratos de las reacciones de conjugación (Navarro A. *et al.*, 2007).

Fitorremediación

El término fitorremediación se refiere a una tecnología que utiliza plantas vivas y los microorganismos asociados a su rizósfera para la remediación *in situ* y *ex situ* de suelos, lodos, sedimentos y agua contaminados a través de la remoción, degradación o estabilización de los contaminantes. La principal motivación para el desarrollo de este tipo de tecnología es el gran potencial para la remediación de sitios contaminados a bajo costo.

La fitorremediación es aplicada a suelos contaminados con elementos o compuestos inorgánicos, incluye, básicamente, tres mecanismos: La fitoextracción o fitoacumulación, la fitoestabilización y la fitovolatilización (Chaney *et al.*, 1997)

Fitoestabilización

Proceso que involucra la retención de contaminantes en el suelo. En donde la estabilización no reduce la cantidad del contaminante en el sitio, sino que disminuye la disponibilidad y, principalmente, reduce los riesgos ambientales y de salud humana. La disponibilidad del contaminante se abate a niveles aceptables por secuestración o sorción (adsorción) de los contaminantes en la matriz del suelo (Cunningham y Lee, 1995).

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).

Fitoextracción

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 su desarrollo. Existe una notable excepción de esta regla de un pequeño grupo de plantas que pueden tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, estas plantas reciben el nombre de hiperacumuladoras Cuya capacidad para acumular concentraciones de metales es de 10 a 500 veces mayores que otras especies, alcanzando de 1 a 5% del peso seco de la planta, los cuales son utilizados ampliamente para la fitoextracción de metales pesados (Chen et al., 2001). Hasta la actualidad, se han identificado aproximadamente 400 especies hiperacumuladoras, distribuidas entre 45 familias, lo que representa sólo un 0,2% de las angiospermas (Baker et al., 2000; McGrath y Zhao, 2003 (Cuadro 2)). No obstante, la lista sigue creciendo con citas recientes, como la del helecho *Pteris vittata*, que hiperacumula arsénico (Ma et al., 2001), o la de *Alyssum bracteatum* hiperacumuladora del níquel (Ghaderian et al., 2007).

Cuadro 2. Umbrales de concentración de metal en planta utilizados como criterio de hiperacumulación, y número de taxones y familias de plantas hiperacumuladoras.

Metal	Criterio (% en peso	N° taxones	N° familias
	seco de hoja)		
Cadmio	>0.01	1	1
Cobalto	>0.1	28	11
Cobre	>0.1	37	15
Plomo	>0.1	14	6
Manganeso	>1.0	9	5
Níquel	>0.1	317	37
Zinc	>1.0	11	5

Para mejorar el proceso de fitoextracción, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelatantes (Prasat y Freitas, 2003).

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. Asi, el EDTA (ácidoetilendiaminotetracético), 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⁻¹ de EDTA a un suelo contaminado con 1200 mg de Pb por kg⁻¹ de suelo, lo que resultó con una acumulación de 1.6% en tallos de *B. juncea*. El EDTA fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas (Blaylock *et al.*, 1997). Sin embargo, estos agentes quelatantes (EDTA, DTPA, etc.), son costosos y difícil su adquisición, por lo que se hace necesaria la búsqueda de alternativas económicas y ecológicamente

factibles, para colocar los metales pesados disponibles a las plantas y así estar en posibilidades de remediar los suelos contaminados con estos materiales.

Los Ácidos Fúlvicos

Los ácidos fúlvicos (AF) incrementan la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo (hasta 700 meq 100 g de substancia), estimulan el desarrollo radicular, a nivel foliar aumentan la permeabilidad de la membrana celular facilitando la absorción de nutrimentos siendo agentes naturales quelatantes de metales catiónicos, por lo que son utilizados para la nutrición mineral de los cultivos debido a la acción acomplejante que ejercen sus grupos funcionales carboxílicos (COOH) e hidroxílicos (OH) (Molina, 2003).

Son de color amarillo claro a café-amarillento, de bajo peso molecular (de 170 a 2000 Kda), alto contenido de oxígeno (48 por ciento), pero bajo contenido de carbón (45 %); contienen más grupos funcionales de naturaleza acida, particularmente carboxilos. La acidez total es de 900 a 1400 meq 100g⁻¹ y considerablemente más altos que los ácidos húmicos (400 a 870 meq 100g⁻¹) (Stevenson, 1982).

Los AF se distinguen de los ácidos húmicos (AH) por su coloración más clara, por el contenido relativamente bajo en carbono (menos del 55 por ciento) y por su buena solubilidad en agua, alcohol, álcalis y ácidos minerales. Pertenecen al grupo de los ácidos hidroxicarboxílicos y en la hidrólisis ácida forman substancias reductoras (Meléndez, 2003).

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

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio constó de cinco etapas:

- 1. Ubicación, muestreo y recolección de la zona de estudio
- 2. Establecimiento del experimento
- 3. Manejo y colecta o cosecha de las plantas
- 4. Análisis y cuantificación de Zn, Cd y Pb en los tejidos vegetales
- 5. Análisis estadístico

Etapa 1 (Del 18 de abril al 11 de mayo del 2010)

En México, una zona en el Estado de Hidalgo que presenta una mayor contaminación antropogénica se encuentra en el Valle del Mezquital el cual se localiza en la parte sureste de los límites del estado de Hidalgo, a 50 km al noreste de la Ciudad de México (Figura 1) con una altitud entre 1700 y 2100 msnm entre los 19°30' de latitud norte y 99° 08' de longitud oeste; en el está localizado el Distrito de Riego 03 (DR03). Las aguas residuales están compuestas por un 43% de aguas industriales y de un 57% de aguas domésticas. (Figura 2) y según estudios realizados, estas aguas presentan altas concentraciones de detergentes, grasas, aceites y metales trazas que inciden sobres los suelos. Por esta razón el DR03 posee a nivel mundial la mayor superficie con más tiempo de irrigación debido a las zonas de influencia (de 20 a 99 años) (CNA y BGS, 1995) (Figura 3).

Sin embargo, se hace notar que las aguas residuales que se utilizan cumplen generalmente con los límites permisibles establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-1996 (Cuadro 3) (Méndez, 1982; CNA y BGS, 1995).

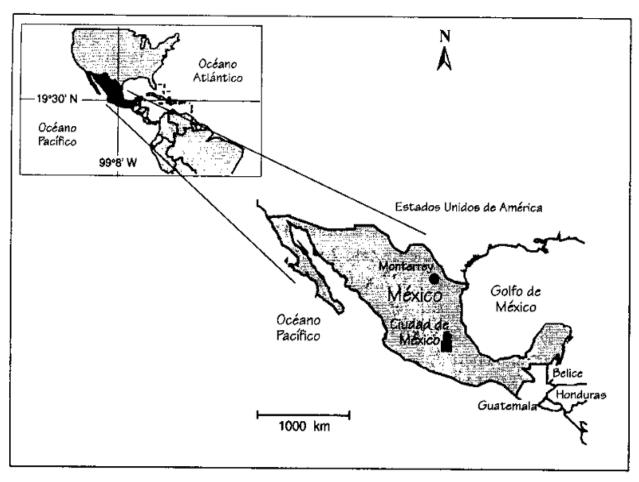


Figura 1. El Valle de Mezquital al norte de la ciudad de México

Cuadro 3. Concentraciones de referencia totales (CR_T) por tipo de uso de suelo establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

Contaminante	Uso agrícola/residencial/comercial (mg/kg)
Cadmio	37
Plomo	400

Nota: a. En caso de que se presenten diversos usos del suelo en un sitio, debe considerarse el uso que predomine. **b.** Cuando en los programas de ordenamiento ecológico y de desarrollo urbano no estén establecidos los usos del suelo, se usará el valor residencial.

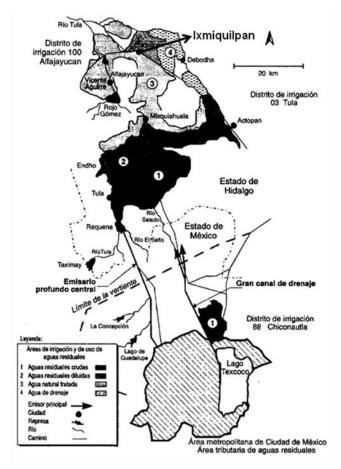
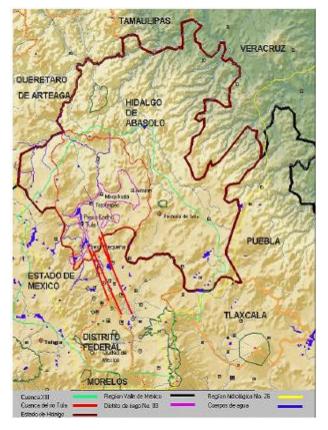


Figura 2. Mapa del sistema de irrigación en el Valle del Mezquital, México.

Figura 3. Áreas de influencia directa sobre el DR03



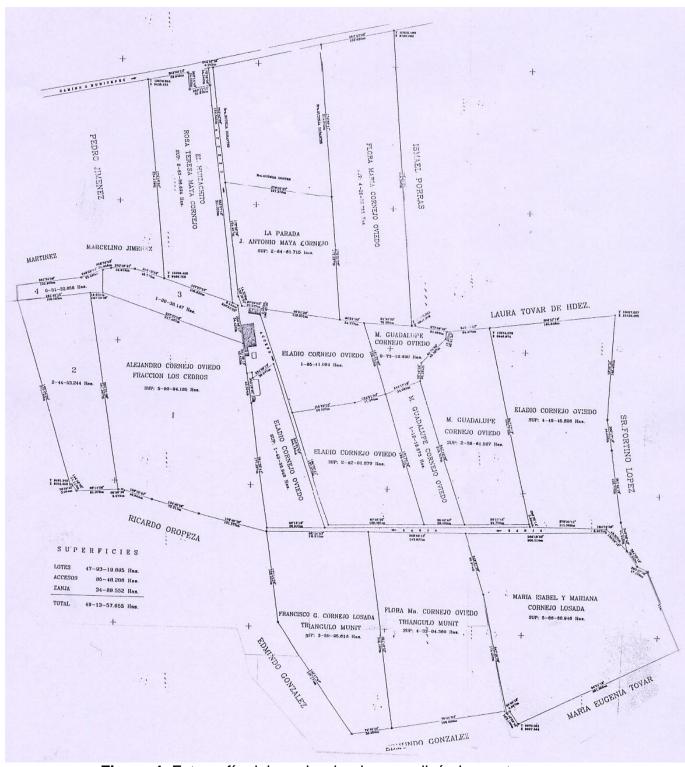


Figura 4. Fotografía del rancho donde se realizó el muestreo

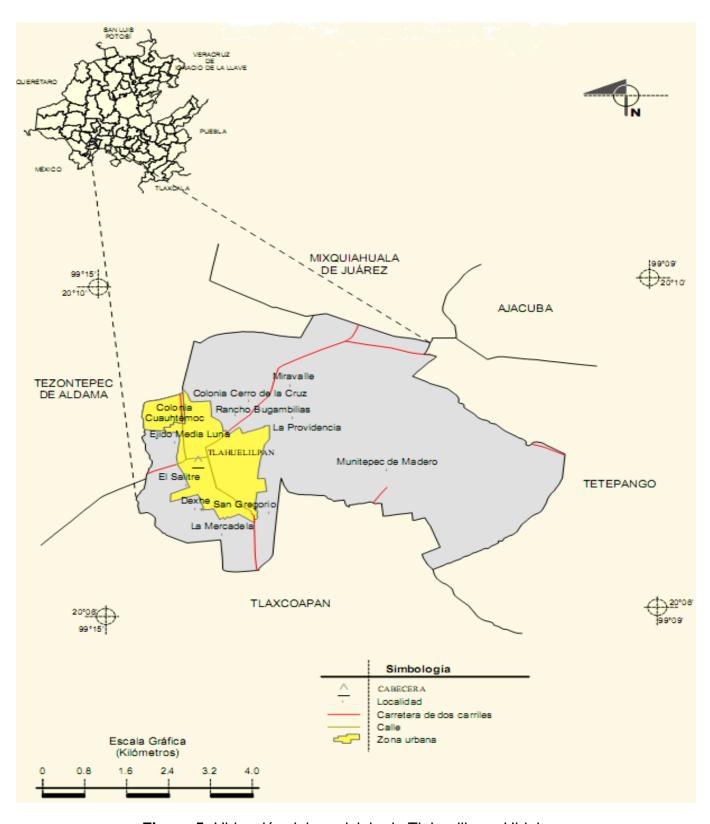


Figura 5. Ubicación del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo.

El muestreo se realizó en un predio (Figura 4) perteneciente al municipio de Tlahuelilpan (Figura 5) con base en la norma la NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. El 16 de abril del 2010 se determinaron el numero de muestras por ha y como ejemplo de la determinación de número de muestras en una parcela (Figura 6) tenemos una superficie de 5-90-94.165 has y de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (Cuadro 4) para este sitio se realizaron 19 muestras. Realizándose para cada parcela los muestreos correspondientes.

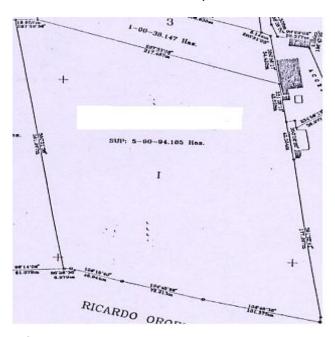


Figura 6. Terreno del Rancho Las Palmas.

El 18 de abril del 2010 se realizó el muestreo de tipo zig-zag, en donde cada punto de muestreo se realizó a una profundidad del suelo de 30 cm y a cada 10 m de distancia, colectando dos kgs de suelo utilizando como herramienta una pala y una barreta de acero inoxidable, empaquetando los kilogramos de suelo por separado en bolsas de polietileno. Todas las muestras se etiquetaron y empaquetaron en costales obteniendo un total de 430 kgs trasladándose a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), donde se secó y mezcló. De todo este suelo el 4 de mayo del 2010 se tomaron 2 kilogramos de esta muestra compuesta para realizar su análisis el 11 de mayo del 2010 en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias

Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila (Cuadro 5) y a la par en el laboratorio Intertek Testing Services de México, S.A. de C.V. (Cuadro 6).

Cuadro 4. Número de muestras por Ha según la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004

Superficie del sitio que se supone		Número mínimo de
Contaminade	Contaminado (Hectáreas)	
De	Α	
0.1	0.19	6
0.2	0.29	7
0.3	0.39	8
0.4	0.49	9
0.5	0.69	10
0.7	0.99	11
1	1.99	12
2	2.99	14
3	3.99	16
4	4.99	18
5	5.99	19
6	6.99	20
7	7.99	21
8	8.99	22
9	10.99	23
11	11.99	24
12	13.99	25
14	15.99	26
16	17.99	27
18	19.99	28
20	21.99	29
22	24.99	30
25	27.99	31
28	29.99	32

Cuadro 5. Resultados del análisis por el laboratorio de química analítica de la facultad de ciencias químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila

Elemento	Zn mg/Kg	Cd mg/Kg	Pb mg/kg
Cuantificación	184.9426	38.7613	0.8505

Cuadro 6. Resultados del análisis por el laboratorio Intertek Testing Services de México, S.A. de C.V.

Elemento	Zn mg/kg	Cd mg/Kg	Pb mg/Kg
Cuantificación		3.164	32.19

Etapa 2 (13 al 18 de mayo del 2010)

Como material biológico se emplearon plantas de girasol ornamental (*Helianthus annus* L.) de dos variedades "Alpaccino" y "Sunbright" ambas producidas por la empresa SAKATA Seeds. El experimento fue establecido dentro de un invernadero perteneciente al Departamento de Ciencias del Suelo, dentro de las instalaciones de la UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila (25° 22' Latitud Norte, 101° 00' Longitud Oeste) con una altitud de 1760 msnm (Figura 7). El clima de la región es BWhw (x') (e): muy seco, semicálido, con invierno fresco, extremoso, con lluvias en verano y precipitación invernal superior al 10% de la total anual.





Figura 7. Ubicación del invernadero

Figura 8. Establecimiento de las macetas

El 13 de mayo del 2010 se ubicaron 80 macetas de polietileno rígido color negro con capacidad de 5 kgs acomodadas en 8 columnas y 10 filas colocando por dentro de la base en cada maceta un cuadro de 30 x 30 cms de papel de estraza con el objetivo de evitar la lixiviación del suelo. El diseño experimental empleado fue el de bloques al azar con arreglo factorial.

Después las semillas fueron sembradas el 14 de mayo del 2010 utilizando el suelo agrícola contaminado como sustrato. Realizando al día siguiente la primera aplicación de los ácidos fúlvicos. Cada aplicación de ácidos fúlvicos consistió en mezclar la concentración de 2, 4 o 6 ml L⁻¹ de agua y un testigo absoluto para cada variedad. De esta mezcla se aplicaron 100 ml a cada unidad experimental, cada 15 días, realizando tres aplicaciones durante todo el experimento (Figura 8), (Figura 9), (Figura 10) y (Figura 11).Los ácidos fúlvicos fueron un producto comercial (de la empresa GBMG) extraídos de leonardita (Figura 12). El 18 de mayo del 2010 se aplicó una solución nutritiva, la cual consistió en mezclar en un litro de agua 20 grs de NKS (12-00-45), 15 grs de sulfato de potasio (0-0-50) y 10 grs. de MAP como fuente de fertilizantes aplicándose 100 ml de la solución por cada unidad experimental.



Figura 9. Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos



Figura 10. Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos



Figura 11. Unidad experimental después de la aplicación de los ácidos fúlvicos



Figura 12. Ácido fúlvico de la empresa CBMG

Etapa 3 (Del 01 de junio al 27 de noviembre del 2010)

Las variables evaluadas fueron la longitud de la raíz, el peso fresco y el peso seco de la raíz, tallo, hoja y flor. El primero de junio se realizó la primera cosecha de las plantas. Estas fueron determinadas para cada variedad ("Sunbright" y "Alpaccino")

durante 15 días después de la siembra en donde la variedad "Alpaccino" tuvo un desarrollo precoz en comparación a la variedad "Sunbright", realizando 3 cosechas de plantas en total para cada variedad. Las cosechas consistieron primero en llenar tres cuartas partes de una tina de acero inoxidable de 40 lts de capacidad, extraer cuidadosamente la planta entera con el cepellón de la maceta, sumergiéndola dentro de la tina de acero inoxidable, lavando toda la raíz eliminando el exceso del suelo. Posteriormente se llenaron 10 lts de agua de una cubeta plástica de 20 lts de capacidad para trasladar las plantas al laboratorio.

En el laboratorio de fertilidad de suelos del departamento de Ciencias del Suelo se lavó cuidadosamente con agua bidestilada la raíz de la planta eliminando impurezas para posteriormente sumergirlas en una solución líquida de vinagre de manzana para tomarle su fotografía correspondiente. También fueron separados la raíz, hojas, tallos y capítulo para registrar su peso en fresco, etiquetando correctamente con el nombre del órgano vegetal (raíz, tallo, hoja y flor), repetición de la muestra, concentración del tratamiento (2, 4 o 6 ml L⁻¹ de agua o testigo absoluto) y el nombre de la variedad del girasol ("Sunbright" o "Alpaccino"), en bolsas de papel de estraza, colocando cada una de estas estructuras dentro de las bolsas de papel de estraza, introduciéndolas durante 24 hrs en una estufa de secado a una temperatura constante de 48º C. Después de esto se registro el peso seco de cada una. Una vez secas, las muestras vegetales se molieron en un mortero de porcelana y en un procesador de alimentos, ya molidas las muestras vegetales se realizó el proceso de tamizado en donde se seleccionó la fracción cuyo tamaño fuera menor de 500 µm. Disponiéndose en bolsas de polietileno, etiquetándolas individualmente, para ser trasladadas al Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila y realizar su cuantificación y análisis de Zn, Cd y Pb.

Etapa 4 (Del 13 de agosto al 6 de diciembre)

Esta etapa se realizó en el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila. La etapa consistió en la digestión de las diferentes muestras que se obtuvieron en la etapa 3, así como la cuantificación de Zn, Cd y Pb en las mismas.

El proceso de digestión se realizó con el método Oficial de la AOAC 975.03 modificado y consistió de los siguientes pasos:

- 1.- Pesar 0.5 g de muestra en crisoles previamente tarados.
- 2.- Llevar a la mufla los crisoles a 500 °C durante 2 horas.
- 3.- Una vez fríos los crisoles, se le añadió 2 ml de HNO₃ 8M
- 4.- Los crisoles se llevan hasta sequedad en una parrilla de calentamiento.
- 5.- Una vez eliminado el exceso de HNO₃, se llevan los crisoles nuevamente a la mufla a 500 °C durante 1 hora.
- 6.- Una vez que se enfriaron los crisoles se les añadió 5 ml de HCl 6M.
- 7.- Por último se filtran y se aforan a 50 ml con agua desionizada

Una vez digerida la muestra, se lleva a su lectura en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAAF) marca Varian modelo AA240FS. Para realizar las lecturas con el EAAF se realizó previamente una curva de calibrado con 5 estándares a partir de un estándar certificado de 1000 mg L⁻¹

Etapa 5 (Del 19 de enero 25 de junio)

Siendo los factores variedades con dos niveles, ácido fúlvico con cuatro niveles de concentración, peso fresco y peso seco de la planta. Cada nivel de concentración tuvo 10 repeticiones produciendo un total de 80 unidades experimentales. La unidad experimental fue una planta por maceta para una distribución de los tratamientos completamente al azar.

V. RESULTADOS

La acumulación de metales pesados fue distinta, al igual el efecto de las concentraciones de los ácidos fúlvicos entre las variedades. En donde fue necesario mostrar este componente de respuesta diferencial se realizó una partición de los datos de tal forma que se construyeron gráficas de respuesta para cada variedad.

Raíz

Peso fresco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Peso seco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Contenido de Zinc

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn en la raíz (Figura 13). Se encontró que en la variedad para flor de corte "Sunbright", al aplicar el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, rebasó en 41.88 % al testigo absoluto. En cambio en la variedad para flor de maceta "Alpaccino", al adicionar 2 y 6 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos y el testigo absoluto, los valores de Zn en este tejido, fueron similares; pero, con la adición de 4 ml L⁻¹ el valor disminuyó en comparación a donde se aplicaron los otros tratamientos (Figura 13).

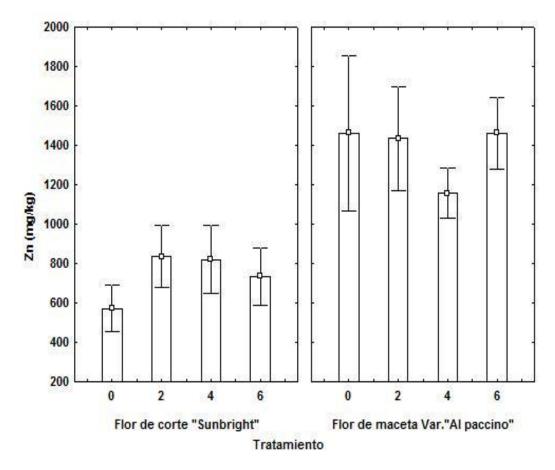


Figura 13. Contenido de zinc en la raíz de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Cadmio

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta distinta entre variedades que indica la habilidad de las plantas para absorber y acumular Cd en la raíz (Figura 14). Se encontró que en la variedad para flor de corte "Sunbright", con la aplicación del tratamiento de 4 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos, se determina que con éste se sobrepasó en 198.33 % de absorción de Cd al testigo absoluto. En la variedad asignada para flor de maceta "Alpaccino", se obtuvo 118.18 % más de Cd cuando se agregaron 2 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos en comparación al testigo absoluto (Figura 14).

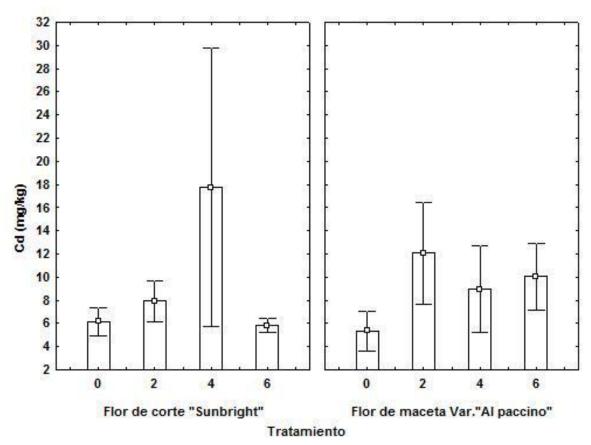


Figura 14. Contenido de cadmio en la raíz de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Plomo.

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Pb en la raíz (Figura 15). Los tratamientos, presentaron efecto altamente significativo en el contenido de plomo en la raíz del girasol ornamental. Además, se encontró que en la variedad de flor de corte "Sunbright", conforme aumentó la dosis de los compuestos húmicos, disminuyeron los valores, pero, con el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos, se superó al testigo absoluto en 98 %. En lo que respecta a la variedad de flor de maceta "Alpaccino", con el tratamiento de 4 ml L⁻¹ se sobrepaso al testigo absoluto en 435.71 % (Figura 15).

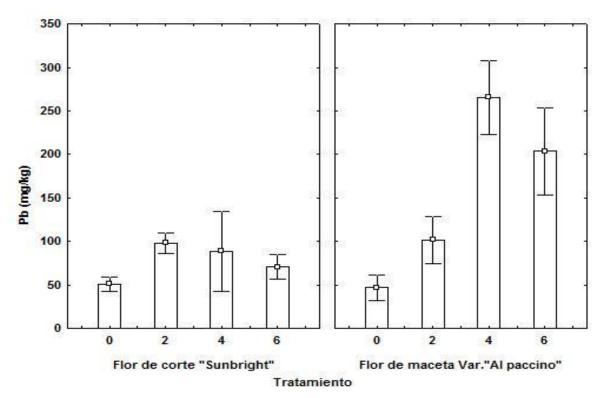


Figura 15. Contenido de plomo en la raíz de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Tallo.

Peso fresco

En el peso fresco no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Peso seco

En el peso seco encontramos diferencia significativa del girasol ornamental por variedades. Gráficamente, se encontró que en la variedad para flor de corte "Sunbright", al aplicar el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, rebasó en 52.62 % al testigo absoluto. En la variedad para flor de maceta "Alpaccino", al adicionar 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos supero en un 14 % al testigo absoluto; pero, con la adición de 4 ml L⁻¹ el valor disminuyó en comparación a donde se aplicaron los otros tratamientos (Figura 16).

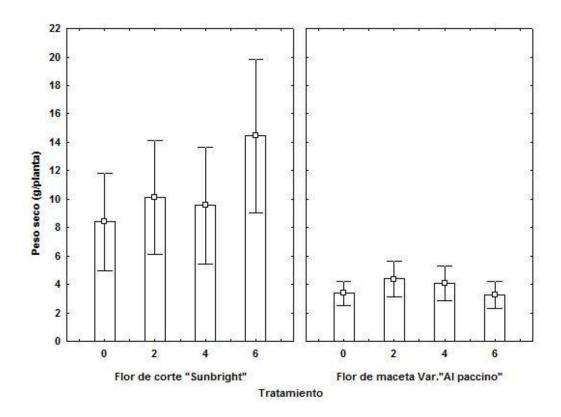


Figura 16. Contenido de peso seco del tallo del girasol ornamental, en la flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Zinc

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn en tallo (Figura 17). En cuanto a los tratamientos no efectuaron efecto significativo; sin embargo, gráficamente si la hay, ya que al agregar el tratamiento de 4 ml L⁻¹ de ácido fúlvico a la variedad "Sunbright" de girasol ornamental, aventajó en 83.33 % al testigo absoluto. Aquí, con 2 ml L⁻¹ se presentó el valor de 500 mg/kg⁻¹; a la adición de 4 ml.L⁻¹ aumentó casi hasta 600 mg/kg⁻¹ y con la dosis mayor de las substancias húmicas, disminuye considerablemente. En la variedad de flor de maceta "Alpaccino", conforme aumentó la cantidad del compuesto húmico, la cuantía de Zn en este órgano, disminuyó; así, al aplicar 2 ml L⁻¹ de agua, se superó en 65 % al testigo absoluto (Figura 17).

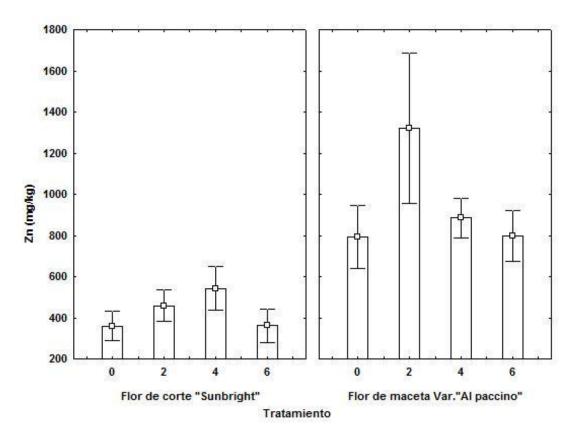


Figura 17. Contenido de zinc en el tallo de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Cadmio

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Cd en el tallo (Figura 18). En la variedad "Sunbright", de forma gráfica al agregar 4 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos si, porque superó en 340 % al tratamiento en donde sólo se aplicó agua. En la variedad "Alpaccino", empleada como flor para maceta, hay efecto altamente significativo de los tratamientos; aquí, cuando se adicionaron 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos se superó al testigo absoluto en 194.87 % (Figura 18).

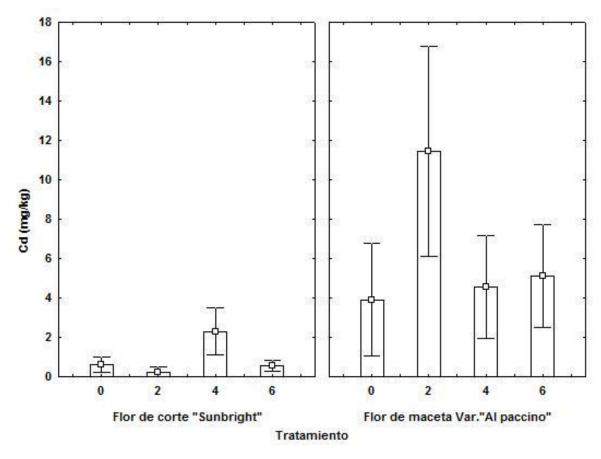


Figura 18. Contenido de cadmio en el tallo de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Plomo

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Pb en el tallo (Figura 19). En el contenido de Pb en el tallo del girasol, hay efecto significativo de los tratamientos; aquí, en la variedad de flor de corte "Sunbright", conforme aumentó la dosis de las substancias húmicas, disminuyeron los valores del contenido del metal pesado; es decir, con el tratamiento de 2 ml L⁻¹ se adelantó en 156.52 % al testigo absoluto. En la variedad de flor de maceta "Alpaccino", se descubrió que con la adición de este tratamiento, hay 1106 % mayor cantidad que en el testigo absoluto (Figura 19).

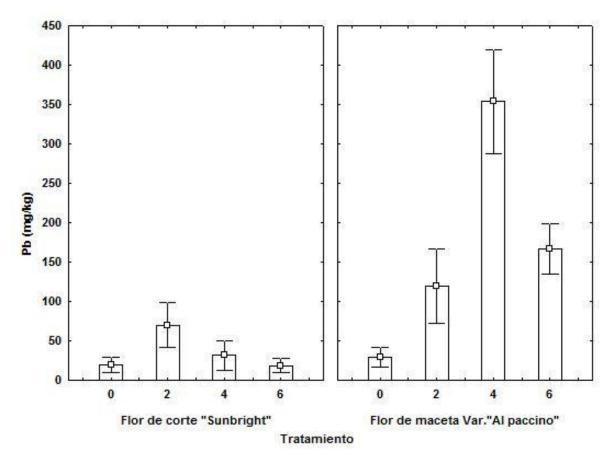


Figura 19. Contenido de plomo en el tallo de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Hoja

Peso fresco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Peso seco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Contenido de Zinc

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la distinta habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn en la hoja (Figura 20). Se encontró que en la flor de corte, hay una relación directamente proporcional, ya que al aumentar la dosis de los ácidos fúlvicos, aumenta también el contenido de Zn y todo lo contrario sucede en la flor empleada para maceta. De forma particular, en la flor de corte "Sunbright", al aplicar 6 ml L⁻¹ del ácido fúlvico superó en 57.14 por ciento al testigo absoluto. Y para la variedad de flor de maceta "Alpaccino" descubrimos que al agregar 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, superó en 77.77 % al tratamiento en donde sólo se aplicó agua (Figura 20).

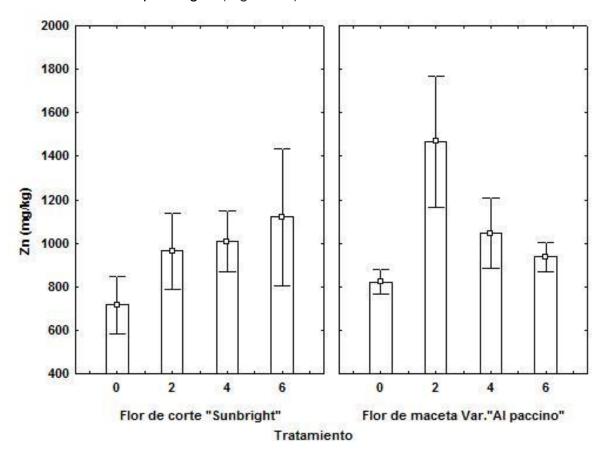


Figura 20. Contenido de zinc en la hoja de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Cadmio

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Cd en la hoja (Figura 21). Aunado a esto, se pone de manifiesto que en la variedad "Sunbright", como flor de corte, se presentó que al adicionar 4 ml por L⁻¹ del ácido fúlvico, rebasó en 100 % a la hoja del girasol donde solo se aplicó agua. Y en cuanto a la variedad "Alpaccino" de flor de maceta, donde se agregó el testigo absoluto, se superó a los tratamientos en donde se aplicaron los ácidos fúlvicos.

De forma general, se puede establecer que la variedad para maceta, superó ampliamente a la variedad para flor de corte, en la cantidad de Cd acumulado en la hoja del girasol (Figura 21).

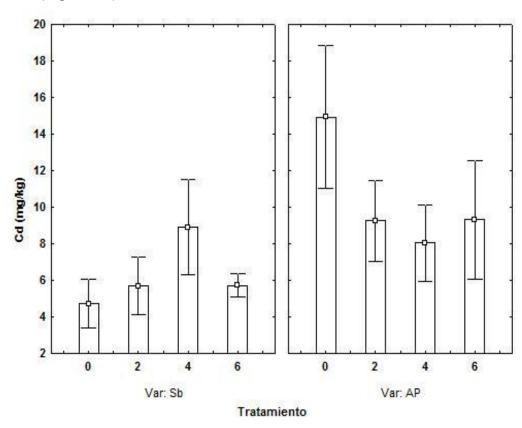


Figura 21. Contenido de cadmio en la hoja de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Plomo

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Pb en la hoja (Figura 22). Localizándose que en la variedad para flor de corte "Sunbright", con el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos se aventajó en 84.84 % al testigo absoluto; sin embargo, en la variedad para flor de maceta "Alpaccino", se sobrepasó en 227.9 % en la absorción de Pb al testigo absoluto (Figura 22).

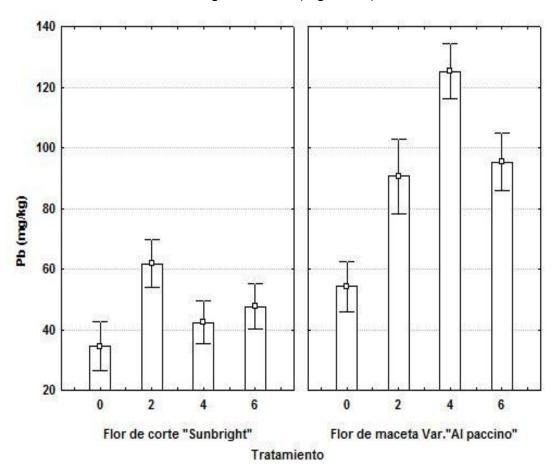


Figura 22. Contenido de plomo en la hoja de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Flor

Peso fresco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Peso seco

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este resultado se considera adecuado considerando que las plantas mostraron diferencias en la cantidad de metales acumulados en los tejidos.

Contenido de Zinc

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn en la flor. Sin embargo, gráficamente si se observan cambios. Así, en la variedad de flor de corte "Sunbright", se presentó que al adicionar 2 ml L⁻¹ del ácido fúlvico, se aventajó en 41.37 % a donde se agregó el testigo absoluto. Aquí, se puede observar que conforme aumentó la dosis del ácido fúlvico, la cantidad de Zn en el capítulo disminuyó. En la variedad de flor de maceta "Alpaccino", al aplicar 2 ml L⁻¹ del ácido fúlvico se aventajó en un 264.51 % de mg de Zn por kg⁻¹ de biomasa al tratamiento en donde sólo se aplico agua (Figura 23).

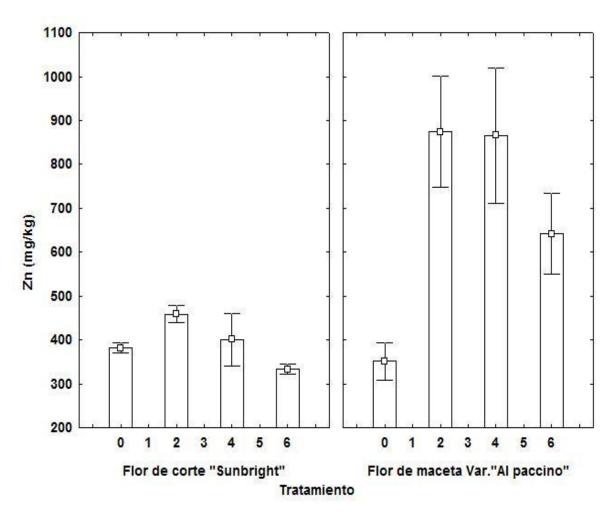


Figura 23. Contenido de zinc en la flor de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

Contenido de Cadmio

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn en el capítulo (Figura 24). En la variedad de flor de corte "Sunbright", se encontró que al adicionar el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, se aventajó en 1170.66 % al testigo absoluto y para la variedad de flor de maceta "Alpaccino", se encontró que con el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, en el capítulo, fue la mayor absorción de Cd porque adelantó 190 % mg de Cd kg⁻¹ de biomasa al testigo absoluto, (Figura 24).

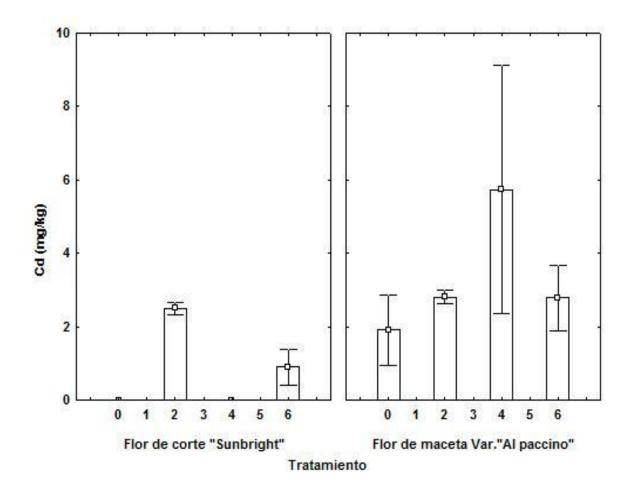


Figura 24. Contenido de cadmio en la flor de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado

Contenido de Plomo

El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se encontró una respuesta diferencial entre variedades que indica la diferente habilidad de las plantas para absorber y acumular Zn la flor (Figura 25). Así, en la variedad de flor de corte "Sunbright", se presentó que al aplicar el tratamiento de 2 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos, indica una superior absorción del metal pesado, ya que con este tratamiento se aventajó en 1117 % al testigo absoluto. Mientras tanto, en la variedad de flor de maceta "Alpaccino", se encontró que la adición de 4 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos, resultó ser el más sobresaliente en la absorción de Pb, ya que superó en 110.52 % más que el testigo absoluto (Figura 25).

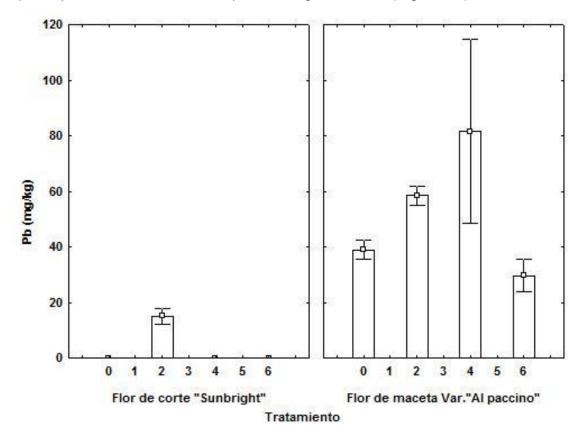


Figura 25. Contenido de plomo en la flor de girasol ornamental, de flor de corte "Sunbright" y para flor de maceta "Alpaccino", con la adición de ácidos fúlvicos de Leonardita en un suelo contaminado.

VI. DISCUSIÓN

Cronológicamente ha habido varios estudios sobre el impacto de la contaminación por la irrigación con aguas residuales, provenientes de la ciudad de México y áreas conurbadas a suelos agrícolas del Valle del Mezquital, Hidalgo, pertenecientes al Distrito de Riego 03 (DR03).

En el área mencionada Siebe (1995) registró incrementos líneares en concentraciones de metales pesados a través del tiempo; de esta manera, después de 90 años de irrigación las concentraciones individuales de los suelos de los campos fueron de tres a seis veces más que aquellos suelos más profundos. Siebe (1994) identifica a los suelos vertisoles como más profundos y ricos en arcilla, pueden retener más agua que los leptosoles y de esta manera retienen más agua. Como resultado, también reciben más metales y fósforo. Sin embargo, sus grandes contenidos de arcilla y material orgánico (después de 90 años de irrigación) permiten absorber los contaminantes más fácilmente (Siebe y Fischer, 1996). Siebe y Fischer (1996) mencionan también, que el monitoreo de la contaminación del suelo por metales pesados en la irrigación del Distrito de Riego 03, debe llevarse a cabo con el fin de controlar la transferencia futura de metales a la cadena alimenticia. Precisamente no sabemos que es lo que extiende la adición de los metales a el suelo del Valle del Mezquital que son disponibles para las plantas, lo que sabemos es que las cantidades son efectivamente muy pequeñas siendo fácilmente más extraíbles (Siebe, 1995).

De esta manera Siebe y Cifuentes (1995) encontraron entre abril y octubre de 1990 en Vertisoles del DR03 contenidos promedios de metales pesados de 0.40 mg L¹ de Zn, 0.11 mg L⁻¹ de Pb y 0.005 mg L⁻¹ de Cd documentando sales solubles, substancias tensoactivas y metales pesados, incrementando sus concentraciones en los suelos de sitios irrigados con aguas residuales. En este mismo sentido (BGS y CNA 1995), describen el potencial de estos contaminantes para moverse radialmente y afectar el suministro público. Sin embargo, McGrath *et al.*, (1995) indican la tolerancia límite existente para los contenidos metálicos en los suelos por ejemplo en los suelos de la Unión Europea (Zn: 150-300 mg kg⁻¹, Pb: 500-300, y Cd: 50-140 mg kg⁻¹). Cinco años después (J.K. Friedel *et al.*, 2000), reportaron en un suelo tipo vertisol del DR03,

con 80 años de irrigación con efluentes de aguas residuales sin tratamiento de la ciudad de México, concentraciones de 291 µg g⁻¹ de Zn, 76 µg g⁻¹ de Pb y 1.80 µg g⁻¹ de Cd. En el siguiente año Ortega *et al.*, (2001), estudio el efecto de un suelo tipo vertisol con 90 años de irrigación en el Valle del Mezquital de México 191.1 mg kg⁻¹ de Zn y 46.5 mg kg⁻¹ de Pb. En acuerdo con (SEMARNAP 2002), los cuales reportan que la región arroja los valores más altos de contaminantes orgánicos y tóxicos pero también es de las más productivas.

Después Herre *et al.* (2004) encontraron en un suelo vertisol perteneciente al DR03 una concentración de 8.3 μg kg⁻¹ de Cd en relación con 0.45 mg g⁻¹ de carbón orgánico disuelto presente en el suelo. Más tarde (Ortega *et al.*, 2007), encontraron 280 mg kg⁻¹ de Zn, 87.5 mg kg⁻¹ de Pb y 2 mg kg⁻¹ de Cd de una muestra de 0 a 30 cm de profundidad de un suelo vertisol del Valle del Mezquital irrigados durante 95 años de aguas residuales. En el presente trabajo de acuerdo al análisis de una muestra compuesta de un suelo agrícola tipo vertisol del municipio de Tlahuelilpan, Hidalgo, México perteneciente al DR03 e irrigado con aguas residuales se detectaron 184.94 mg kg⁻¹ Zn, 38.76 mg kg⁻¹ Cd y 0.85 mg kg⁻¹ Pb.

Si es bien sabido la concentración de metales pesados quedan retenidos en estos suelos, siendo absorbidos por los cultivos, así como lo reportan (Siebe y Cifuentes 1995) quienes suponen contenidos de Pb y Cd en maíz (*Zea mays*) y alfalfa (*Medicago sativa*), alcanzando niveles inaceptables después de 120 años de irrigación. Corroborando ésta suposición (Mejía Barrón *et al.*, 1990), encontraron concentraciones en maíz (*Zea mays*) de 112 mg kg⁻¹ de Zn, 15.6 mg kg⁻¹ de Pb y 2.9 mg kg⁻¹ de Cd. Por otro lado en corteza de maguey (*Agave salmiana*) sólo encontraron bajas concentraciones de Cd (0.03 mg kg⁻¹), pero un poco más altas en raíces de habas (*Vicia faba L.*) 0.68 mg kg⁻¹ Cd. Esto es indicativo de que en esta área, los suelos presentan una mayor capacidad de retención para el Cd fácilmente disponible para los cultivos. Esta capacidad de retención puede estar asociada a la elevada capacidad de intercambio catiónico que muestran estos tipos de suelo (54.41 mol kg⁻¹) y sus características de textura arcillo-arenosa (Lucho *et al.*, 2005).

Sin embargo Prieto García *et al.* (2007) en cultivos de suelos pertenecientes al DR03, que son irrigados con aguas residuales encontró < 0.0052 mg kg⁻¹ de Cd en la

pulpa y en la corteza del nopal, 6.5707 mg kg⁻¹ de Pb en la pulpa del nopal y 7.1746 mg kg⁻¹ de Pb en la corteza del nopal. También encontró concentraciones de < 0.0052 mg kg⁻¹ de Cd en la pulpa y corteza de maguey (*Agave salmiana*), mientras que para Pb los valores encontrados en la pulpa y en la corteza del maguey (*Agave salmiana*), fueron 16.4306 mg kg⁻¹

Los ácidos fúlvicos por naturaleza, contienen alta acidez total, dominada principalmente por grupos funcionales carboxilos (-COOH-1); a causa de esto, poseen la facilidad de adsorber y/o quelatar cationes (Schnitzer, 2000), por lo que (Smith *et al.*, 2003), menciona que un agente quelatante es un compuesto químico capaz de fijar o secuestrar iones metálicos formando compuestos estables llamados quelatos; pero el agente quelatante es un ácido orgánico sintético de alto peso molecular. Por lo anterior, Jensen *et al.* (2010) en un trabajo donde investigan la capacidad de substancias húmicas (SH) y el EDTA, para movilizar metales pesados como el Cd, Cu, Ni, Pb y Zn, encontraron que las SH son más efectivas en la extracción de los metales mencionados; además Volke S. T. y Velasco T. J. (2002), también están de acuerdo con lo anterior y además, mencionan que a diferencia del uso del EDTA las SH ayudan en la germinación y crecimiento de las plantas, aparte de ser amigables con el medio ambiente. Borggaarda *et al.* (2010) establecen que al aplicar SH de un lixiviado de estiércol de bovino, en un suelo calcáreo, se puede extraer Pb pero no Cd.

En Europa y Estados Unidos de América, frecuentemente se emplean agentes quelatantes sintéticos como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para remediar suelos contaminados con metales pesados; sin embargo, estos compuestos son de alto costo y a veces no garantizan su eficacia para la fitorremediación.

Según Baker y Brooks (1989) documentaron que las plantas hiperacumuladoras pueden acumular hasta 100 mg.kg⁻¹ de Cd, en peso seco y (Brooks *et al.*, 1977), define una planta hiperacumuladora de plomo, como aquella capaz de almacenar en su tejido seco hasta 1000 mg kg⁻¹ del metal. Después (Baker y Brooks, 1989) consideran acumuladoras de Pb a especies vegetales que concentran más de 1000 mg de plomo kg⁻¹ de materia seca. También (Brooks *et al.*, 1998), encontró que *Thlaspi rotundifolium*, almacenó hasta 8 200 mg kg⁻¹ de plomo en hojas y raíces, definiéndola como una especie hiperacumuladora. En la presente investigación la mayor acumulación de Pb

encontrada en *Helianthus annus L.*, fue en la variedad "Alpaccino", con la aplicación de 4 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos y su acumulación fue de 353.33 mg kg⁻¹ de peso seco.

Así, los metales pesados inhiben la germinación de semillas, por ejemplo (Xiong 1997), estudió el efecto del plomo en la germinación de semillas y crecimiento de plantas de una especie hiperacumuladora *Brassica pekinensis Rupr.* .Los resultados mostraron que aún con altas concentraciones de plomo (1000 µg/ml), la germinación no varió significativamente con respecto al control, pero la elongación de las raíces y brotes se vio afectada, reduciendo la longitud a la mitad con respecto al control sin plomo observando mayores efectos negativos en las raíces. Se demostró que esta especie tiene la capacidad para hiperacumular plomo en sus tejidos pero es sensible a concentraciones de plomo mayores a 1000 µg/ml. Lo anterior no concuerda con lo encontrado en el presente trabajo, ya que el 100% de las semillas de ambas variedades de girasol ornamental germinaron.

Brooks et al., (1998) comentan que si se quisiera utilizar plantas hiperacumuladoras como *Thlaspi calaminare*, que acumula 10 000 mg kg⁻¹ de zinc debemos saber que en primer lugar son plantas difíciles de obtener, no sabemos si serían capaces de aclimatarse y además son de muy lento crecimiento y por lo tanto el proceso podría ser más lento. En este caso para Helianthus annus L., en la variedad "Alpaccino" y con la aplicación de 2 ml L⁻¹, la acumulación de Zn en las hojas fue de 1464.70 mg kg⁻¹. Dentro de las técnicas para remediar suelos contaminados con metales pesados, la fitoextracción es el uso de plantas hiperacumuladoras para remediar suelos contaminados de metales pesados. El girasol ornamental (Helianthus annus L.), está dentro de éste grupo, ya que posee un sistema radicular tolerante a los metales pesados así (Xiong 1998), sugiere que la principal razón para que la longitud de la raíz sea usada como una medida para determinar la capacidad de una planta para tolerar metales, es que la raíz es más sensible a elementos tóxicos en el ambiente, debido a que es un órgano especializado en la absorción. Por tal motivo, es el primer órgano en estar sometido a la presencia de metales contaminantes y por lo tanto, el primero en presentar efectos tóxicos. El sistema radicular de (Helianthus annus L.), en las dos variedades no presentaron sensibilidad alguna ya que conforme

se realizaron las cosechas de las muestras vegetales ninguna raíz presento algún desarrollo anormal.

Bergmann y Neubert (1984), reportan concentraciones dentro de un rango nutricional de Zn de 14 a 41 mg kg⁻¹ de peso seco. En el presente estudio, en la variedad "Sunbright" y con la aplicación de 6 ml L⁻¹ de ácido fúlvico, encontramos la concentración de 1430 mg kg⁻¹

Chan y Hale (2004) mencionan que en la planta, el cadmio se acumula preferentemente en la raíz, secuestrado en la vacuola de las células y sólo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos, hojas, frutos y semillas. En esta investigación, se concuerda con este autor, ya que de acuerdo a los análisis realizados, la mayor concentración de cadmio se encontró en las raíces para ambas variedades utilizadas. Pero en cuanto al orden de concentración hubo comportamientos distintos, ya que en la variedad "Sunbright" la mayor acumulación fue en la raíz, seguido de hoja, flor y tallo. Y para la variedad "Alpaccino" el orden fue raíz, tallo y flor, ya que en la hoja el testigo absoluto supero a los tratamientos aplicados.

El Pb merece atención especial, ya que ésta omnipresente en las dos variedades y esto está en correspondencia con lo señalado por (Galvão y Corey, 1987). Aunque también se corresponde con la presencia de Pb en los suelos de la zona que han sido evaluados en otros trabajos (Lucho et al., 2005; García et al., 2001; García et al., 1990). (Antosiewicz et al. 1992) demostró que el contenido de plomo en varios órganos de una planta decrece en el siquiente orden: raíz>hojas>tallo>inflorescencias>semillas. Sin embargo, el autor indica que este orden puede variar de acuerdo a la especie de la planta. Tomando en cuenta la referencia anterior en el presente estudio el orden de acumulación de Pb para la variedad "Sunbright" fue: raíz>tallo>hoja>flor y para variedad "Alpaccino" la tallo>raíz>hoja>flor. Mostrando que durante la floración no se produce la mayor adsorción mineral, contradiciendo a Pineda (2004), que menciona que en el caso del girasol (Helianthus annus L.) la máxima adsorción de minerales desde el suelo se produce durante la floración.

De forma general podemos decir que para Zn el más alto valor de concentración para la variedad "Alpaccino" fue 1464.70 mg kg⁻¹, el cual fue encontrado en la hoja y con la adición de 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos. Para el Cd la mayor acumulación fue en la raíz presentando un valor de 12 mg kg⁻¹, con la adición de 2 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos y para Pb la máxima acumulación se encontró en el tallo presentando 353.33 mg kg⁻¹, con la adición de 4 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos. En cuanto concentraciones para la variedad "Sunbright" el Zn, fue encontrada en hoja con 1120 mg kg⁻¹ siendo la aplicación de 6 ml L⁻¹ de ácido fúlvico la mejor dosis. Para el Cd fue en la raíz donde mayoritariamente se acumuló ya que el valor fue de 17.8 mg kg⁻¹ y con la adición de 4 ml L⁻¹.

Para Pb fue en el tallo donde se encontró la mayor concentración, 353.33 mg kg⁻¹ adicionando 4 ml L⁻¹ de los ácidos fúlvicos. Con los resultados anteriores, podemos afirmar que el girasol (Helianthus annus L.) es una especie "hiperacumuladora de plomo". Contrariamente a lo que encontró (Rodríguez et al., 2006), quienes cultivaron seis especies vegetales hiperacumuladoras de Pb entre ellas al Helianthus annus L. en macetas con suelo textura franco arenosa que se contaminó artificialmente con 0, 500 y 1000 mg de Pb kg⁻¹ de suelo y con base a su investigación, no identifico como "hiperacumuladora de plomo" al Helianthus annus L. Sin embargo, hay dos aspectos a considerar. El primero es que no se necesita reducir el contaminante a un valor cero en un determinado suelo, sino reducirlo a niveles que no representen un riesgo mayor a la salud humana y al ambiente. Estos niveles dependerán de diversos factores, entre ellos los niveles máximos permisibles de Pb en el suelo establecidos por las legislaciones ambientales de cada país. El segundo es que las plantas sólo extraen el Pb biodisponible en el suelo, que en la mayoría de los casos es mínima con respecto al contenido total de Pb (< 4 mg Pb L⁻¹ de solución del suelo, para un suelo que contiene 2500 mg Pb kg⁻¹; (Huang et al., 1997b). Bajo esta perspectiva, el extraer esas cantidades podría ser altamente significativo ya que esta última fracción representa la de mayor riesgo ambiental de manera directa, ya que el contaminante tiene la capacidad de ingresar a la cadena alimenticia vía absorción vegetal (Alloway, 1990). Por otro lado, es evidente la necesidad de ampliar las investigaciones para el desarrollo de esta tecnología. Con base en estos resultados, se recomienda enfatizar los esfuerzos hacia la selección de un mayor número de especies vegetales de alta producción de biomasa aunada a la alta capacidad de absorción, traslocación y tolerancia de los metales pesados (como el Zn, Cd y Pb) y mayor extracción de los contaminantes del suelo. Otros puntos a considerar para la selección de especies vegetales biorremediadoras, serán: 1) Reducir al máximo la posibilidad de un disturbio ecológico por la posible introducción de especies o genes de éstas a nuevos ecosistemas; 2) La posibilidad de ser cultivadas y de responder a prácticas agronómicas como la fertilización nitrogenada, uso de quelatos y densidad poblacional óptima (Chaney et al., 2000; Kulli et al., 1999; Bennett et al., 1998) u otras técnicas.

VII. CONCLUSIONES

La sustentabilidad del sistema de vida de nuestra especie se liga a los suelos. Por desgracia, en los últimos cientos de años, este recurso se ha degradado rápidamente como consecuencia de una serie de actividades humanas derivadas de nuestro explosivo crecimiento poblacional. Es clara la necesidad de estrategias de saneamiento y recuperación duraderos y con el adecuado balance costo-beneficio, así como con la consideración de todos los componentes bióticos del sistema suelo. Aunque con mayor costo en tiempo y posiblemente mayor costo económico, la práctica de la fitoextracción, la cual contempla procesos básicos a través de las plantas, promete que contribuirá a la recuperación de suelos, sedimentos y aguas contaminadas. En el Distrito de riego 03 la disponibilidad de metales pesados, sin embargo está incrementando con la duración de irrigación y para este estudio se encontraron concentraciones elevadas de Zn, razón por la cual es necesario emprender acciones con el fin de restaurar tanto como sea posible la calidad del agua de riego así como de los suelos sobre los cuales se siembran dichos cultivos. Para los restantes metales evaluados, se pueden considerar bioacumulaciones de nivel bajos, sin que esto reste importancia a los índices que se alcanzan para Cd y Pb. Aún hace falta mayor investigación respecto a los factores que rigen la bioacumulación selectiva de elementos traza en los cultivos, pues aún existe mucha controversia respecto a los mecanismos que gobiernan el paso de dichos elementos desde un medio contaminado hacia el interior de las plantas.

Actualmente, la fitoextracción inducida químicamente, puede ser considerada como un proceso de dos etapas, en la cual primeramente las plantas acumulan el metal en sus raíces y posteriormente lo translocan hasta los tallos de manera más eficiente, como consecuencia de la adición de agentes quelatantes (Baker y Walker, 1990). La existencia de plantas hiperacumuladoras de metales pesados se conoce desde antiguo, pero la idea de cultivarlas para extraer los contaminantes del suelo (fitoextracción natural) es relativamente reciente. Esta técnica presenta todavía numerosas limitaciones que impiden realizar la descontaminación de los suelos en poco tiempo. Sin embargo, las investigaciones realizadas hasta el momento ya han dado resultados prometedores. Destacan los estudios dirigidos a obtener un aumento

de la productividad de estas especies y de su capacidad de acumulación metálica, a través de la selección y reproducción de cultivares mejorados y de la optimización de las prácticas de manejo del suelo. Paralelamente, los avances realizados en el entendimiento de las relaciones suelo-planta-microorganismos permitirán, en un futuro próximo, modificar las condiciones en la rizosfera de las plantas hiperacumuladoras para potenciar la absorción y la translocación de los metales. Las tendencias encontradas en este estudio, permiten señalar que las especies estudiadas presentan potencial para ser utilizadas como fitorremediadoras en suelos contaminados por metales pesados, en este caso con la dosis baja de los ácidos fúlvicos de leonardita de 2 ml L⁻¹ colocaron disponibles al Zn y Pb recomendando la variedad "Alpaccino" para su fitoextracción y para el Cd la concentración que realizó el efecto más positivo en la potencialización de esta cualidad fue la de 4 ml L⁻¹ de ácidos fúlvicos de leonardita y con la variedad "Sunbright".

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- **Alloway B. J. 1990.** Heavy Metals in Soils. John Wiley and Sons, Inc. New York. pp: 7-28, 25-26, 120-121.
- Amaral-Sobrinho, N.M.B.; Costa, L.M.; Oliveira, C.; Velloso, A.C.X. 1992. Metais pesados em alguns fertilizantes e corretivos. R. Bras. Ci. Solo, v.16, pp. 271-276.
- Antosiewicz, D.M., C. Escudĕ-Duran, E. Wierzbowska, A. Sklodowska. 1992. Indigenous plant species with the potential for the phytoremediation of arsenic and metals contaminated soil. Water, Air, & Soil Pollution 193: 197-210.
- **Baker, A.J.M. y R.R. Brooks. 1989.** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.
- Baker, A.J.M., S.P. McGrath, R. Reeves, y J.A. Smith C. 2000. Metal Hyperaccumulator Plants: A Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils. pp. 85- 107.
 In: Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. (eds Terry, N. y Bañuelos, G.).
- Baker, A.J.M., Walker, P.L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw, A.J. (ed.), Heavy Metal Tolerance in Plants. CRC Press, Boca Raton, pp. 155-178.
- **Barkay, T. y J. Schaeger. 2001.** Metal and radionuclide bioremediation: issue, considerations and potentials. Current Opinion in Microbiology. 4: 318-323.
- **Becerril, J. y M.E. Navarrete. 1993.** Recopilación, aplicación y evaluación de las tecnologías de estabilización/solidificación para el tratamiento de residuos peligrosos. CENAPRED. Coordinación de Investigación. 96 pp.
- Benavides, M.P., S.M. Gallego, M. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants.

 Brazilian Journal of Plant Physiology 17:21-34.

- Bennett F. A., E. K. Tyler, R. R. Brooks, P. E. H. Gregg, R. B. Stewart. 1998. Fertilisation of hyperaccumulators to enhance their potential for phytoremediation and Phytomining. pp: 249-259. In: Plants that hyperaccumulate Heavy Metals. R R Brooks (ed). CAB Int.
- Bergmann, W. and P. Neubert. 1976. Spurenelemente mit toxischer Wirkung. Tabellen über Gehalte in Futtermitteln. Daten und mittles CaCl₂ und NH₄NO₃. Z. Pflanzanernähr. Bodenkunde, 158, 137-146.
- **Bernal M. P. 1997.** Apuntes. Departamento de Conservación del Suelo y Aguas y Manejo de Residuos Orgánicos de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigación Científica (CSIC). Murcia, España.
- **BGS y CNA 1995.** Effects of wastewater reuse on urban Groundwater resource, Leon Mexico, Phase 1 Report WD/94/25, BGS and CAN, Hidalgo, Mexico.
- Blaylock M. J., D. E. Salts, S. Dushenkov O., C. Gussman, Y. Kapulnik, B. D. Ensley and I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. Environ Sci. Tech.
- **Bollag, J.M. y W.B. Bollag. 1995.** Soil contamination and the feasibility of biological remediation. pp. 1-12. In: Bioremediation: Science and applications. Special Publication 43. Soil Science Society of America. Madison, WI.
- Borggaard O.K., H.C.B. Hansen, P.E. Holm, J.K. Jensen, S.B. Rasmussen, N. Sabiene, L. Steponkaite, B.W. Strobel. 2009. Soil Sediment Contam., 18 369.
- **Bosecker, K. 2001.** Microbial leaching in Environmental clean-up programs. Hydrometallurgy 59:245-248.
- **Brooks**, R.R., Lee, J., Reeves, R.D. and Jaffré, T. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. Journal Geochemical Exploration, 7: 49-57.
- **Brooks R., M. Chambers, L. Nicks y B. Robinson. 1998.** Phytomining Trends plant SCI Vol 3 No 9.
- Cabrera, F., L. Clemente, D. Barrientos, E. López R. 1999. Accumulation of heavy Metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar toxic flood. Sci Total Environ 242 (1-3): 117-29.

- **Chan, D.Y. y B.A. Hale, 2004.** Differential accumulation of Cd in durum wheat cultivars: uptake and retranslocation as sources of variation. Journal of Experimental Botany 55:2571-2579.
- Chaney, R.L, M. Malik, Y. M. Li, S. L. Brown, E. P. Brewer, J. S. Angle, A. J. M. Baker. 1997. Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology. 8:279-284.
- Chaney, R. L., J. A. Ryan, Y. M. Li, S. L. Brown. 1999. Soil cadmium as threat to human health. pp. 219-256. In: M.J. McLaughlin and B. R. Singh (ed.) Cadmium in Soils and Plants.
- Chaney, R.L., Y. M. Li, S.L. Brown, F. A. Homer, M. Malik, J.S. Angle, A.J.M. Baker, R.D. Reeves, y M. Chin. 2000. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: Terry, N. y Bañuelos, G., Lewis Publishers. Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. (ed.) Boca Raton, Florida.
- Chaney, R.L., M. Malik, Y. M. Li, S. L. Brown, E. P. Brewer, J. S. Angle, A. J. M. Baker. 1997. Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology. 8:279 284.
- 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., X. Li, B. Chen. 2004. Arbuscular mycohrriza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. Plant and Soil, 261 (1-2), 209-217.
- **CNA y BGS. 1995.** Impact of wastewater reuse on groundwater in the Mezquital Valley, Hidalgo State, Mexico. Overseas Development Administration. México DF.
- Cunningham, S.D. y C.R. Lee. 1995. Phytoremediation: Plant based remediation of contaminated soils and sediments. pp. 145-156. In: Bioremediation: Science and applications. Special Publication 43. Soil Science Society of America. Madison, WI.

- Davies Jr. F.T., J.D. Puryear, R.J. Newton, J. N. Egilla y J.A.S. Grossi. 2002.

 Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of heavy metals in sunflower (Helianthus annus L.). J Plant Physiol 158: 777-786.
- **Evangelou M. W., H. Hactice, D. S. Andreas. 2004.** The Influence of Humic Acids on the Phytoextraction of Cadmium from Soil. Chemosphere 57: 207-213.
- **Gadd, G.M. 1993.** Interaction of fungi with toxic metals. New Phyto. 124: 25-60. Georgetown, TX.
- **Gadd, G.M. 2000.**Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and inmobilization. Current Opinion in Biotechnology. 11:271-279.
- Galvão, L.A.C. y G. Corey. 1987. "Arsénico". Serie Vigilancia. pp. 103 Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. 8 (ed.). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Metepec, México.
- Garbisu C., y Alkorta, I. 1997. Bioremediation: Principles and Future. J. Clean Technol., Environ. Toxicol. & Occup. Med., 6(4), 351-366.
- García Z. A., J. Cruz-Díaz, L. Cajuste. 1990. "Contaminación por Pb, Cd y Cr en Suelos y Tejidos Vegetales de Tlaxcoapan, Tlahuelilpan y Atitalaquia, Hidalgo", Memorias del 1er Simposio Nacional de Degradación del Suelo, UNAM, México.
- García V.G., M. Rubio, L. Del Razo, V. Borja. 2001. Lead Exposure in Children Living in a Smelter Community in Region Lagunera, Mexico. Journal of Toxicology and Environmental Health, 62: 417-429.
- Ghaderian, S.M., A. Mohtadi, M.R. Rahiminejad, A.J.M. Baker. 2007. Nickel and other metal uptake and accumulation by species of Alyssum (Brassicaceae) from the ultramafics of .Environ. Poll.145: 293-298.
- **He, Z.L., X.E. Yang, P.J. Stoffella. 2005.** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. J. Trace Elements Med. Biol. 19:125-140.
- Herre A., C. Siebe y M. Kaupenjohann. 2004. Effect to irrigation water quality on organic matter, Cu and Cu mobility in soils of central Mexico. pp 277-284. In: Water Science and Technology. Vol 50 No. 2.

- Huang J., J. Chen, W. R. Berti, S. D. Cunningham. 1997b. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environ. Sci. & Technol. 31:800-805.
- J.K. Friedel, T. Langer, C. Siebe, K. Stahr. 2000. Effects of long-term waste water irrigation on soil organic matter, soil microbial biomass and its activities in central Mexico. Biol Fertil Soils 31: 414-421.
- J.K. Jensen, P.E. Holm, J. Nejrup, O.K. Borggaard. 2010. Soil Sediment Contam. Submitted.
- Jiménez B. Chávez A. and Hernández C. 1998. Alternative Wastewater Treatment Intended for Agricultural Use in Mexico. Recycling and Reuse. 2º International Conference. Resources and Environmental: Priorities and Challenge. 14-16 September. Milan Italy, 691-698.
- Ko S. O., M. A. Schlautman y E.R. Carraway. 2000. Cyclodextrin-enhanced electrokinetic removal of phenantrene from a model clay soil. Environ. Sci. Technol. 34: 1535-1541.
- Kulli B, M Balmer, R Krebs, B, Lothenbach, G Geiger, R. Schulin. 1999. The influence of nitriloacetate on heavy metal uptake of lettuce and ryegrass. J. Environ. Qual. 28:1699-1705.
- Kumar, P.B., A.N. Dushenkov, V. Motto, y H. I. Raskin. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. Environmental Science & Technology 29 (5): 1232 (7).
- **Lovley, D.R. y J.D. Coates. 1997.** Bioremediation of metal contamination. Current Opinion in Biotechnology.8: 285-289
- Lucho-Constantino, C. A., F. Prieto-García, L. M. Del Razo, R. Rodríguez-Vázquez, y H. M. Poggi-Varaldo. 2005. Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with wastewater in central Mexico. Agriculture, Ecosystems y Environment, 108: 57-71.
- Lucho, C.A., M. Álvarez, Beltrán, R.I., Prieto, F. and Poggi, H. 2005a. A multivariate analysis of the accumulation and fractionation of major and trace elements in agricultural soils in Hidalgo State, Mexico irrigated with raw

- wastewater. Environmental International, On Line: 0160-4120-D 2004 doi:10.1016/j.envint.2004.08.002.
- Ma, L.Q., K.M. Komar, T. C. Zhang, W.H. Cai, y E.D Kennelley. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic A hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. Nature. 409: 579-579.
- McGrath S. P., A. C. Chang, A. L. Page, and E. Witter. 1995. Land application of sewage sludge: scientific perspectives of heavy metal loading limits in Europe and the United States. Environ. Rev. 2: 108-117.
- **McGrath S.P. y Zhao F.J. 2003.** Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. Current Opinion in Biotechnology. 14: 277-282.
- Medina, R. J. A, A. S. A. Vallejo, J. M. Rocha. 2001. Elementos a considerar para integrar las bases de la política para la prevención de la contaminación del suelo y su remediación. pp. 65. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. (ed.) P7.
- Mejía-Barrón M., Sánchez S., Hernández G., Flores L., Villareal G. y Guajardo R. 1990. "Metales Pesados en Maíz (Zea mays L) y Alfalfa (Medicago sativa L.) y su correlación con extractables en suelos del DDR 063, Hgo.", Memorias del 1er Simposio Nacional de Degradación del Suelo, UNAM, México.
- **Meléndez G. 2003.** Taller de abonos orgánicos. Quelatos como fertilizantes. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Méndez, G.T. 1982. Estudio sobre la contaminación de suelos agrícolas del Valle del Mezquital, Hidalgo, por A.B.S, boro y metales pesados, por el uso de aguas contaminadas por uso de aguas negras de la Ciudad de México. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, México, 43-45.
- Méndez, G.T. 1982. Estudio sobre la contaminación de suelos agrícolas del Valle del Mezquital, Hidalgo, por A.B.S, boro y metales pesados, por el uso de aguas contaminadas por uso de aguas negras de la Ciudad de México. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, México, 43-45

- **Molina E. 2003.** Taller de abonos orgánicos. Quelatos como fertilizantes Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Navarro Aviño, J. A. P; Aguilar, I. A; López, J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas.

 Revista Ecosistemas. España.

 (http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?ld=488&ld_Categoria=1&tipo=po rtada). (Visitado el 17 de Mayo de 2007).
- 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 del 2007.
- Ortega-Larrocea M. P., C. Siebe, G. Bécard, I. Méndez, R. Webster. 2001. Impact of a century of wastewater irrigation on the abundance of arbuscular mycorrhizal spores in the soil of the Mezquital Valley of México. Applied Soil Ecology 16 149-157.
- Ortega-Larrocea M.P., C. Siebe, A. Estrada, R. Webster. 2007. Applied soil ecology 37: 129-138.
- 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. Tecomán, Colima.
- Porta, C. J; López-Acevedo, R. M; Roquero, de L. C. 1994. Edafología: para la agricultura y el medio ambiente. Mundi Prensa, 807 P. España.
- Prasad, M.N. y Freitas, H.M. 2003. Metal hyperaccumulation in plants biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology.
 6
 (3): 285-321.
 (http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue3/full/6)
- Prieto-García F., J. Prieto-Méndez, C. A. González-Ramírez, A. D. Román Gutiérrez. 2007. Contaminación y fitotóxicidad en plantas por metales pesados

- provenientes de suelos y agua. Tropical and Subtropical Agroecosystems, Vol. 10, Núm. 1, sin mes, pp. 29-44. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Rao P.S.C, Davis G. B. y Johnston C. D. 1996. Technologies for enhanced remediation of contaminated soil and aquifers: an Overview, analysis and Case studies: 189-210.
- 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
- Rodríguez, O. J., Rodríguez, F.H., Lira, R.G., Martínez, C. J., Lara, M.J. 2006. Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos contaminados. Fitotecnia Mexicana 29(3) 239-245.
- **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
- SEMARNAP (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 2002. Evaluación de Impacto Ambiental del Desarrollo Urbano del Valle de México. Dirección General de Ordenamiento Ecológico e Impacto Ambiental. Estudio de caso, el río Tula. pp. 1-13
- **Semple, K. T., B. J. Reid y T. R. Fermor 2001.** "Impact of compositing strategies on the treatment of soils contamined with organic pollutans". Environpollution Vol. 39. Pág 26-31.
- **Siebe, C., 1994.** Acumulación y disponibilidad de metales pesados en suelos regados con aguas residuales en el Distrito de Riego 03, Tula, Hidalgo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 10, 15-21.
- **Siebe, C., 1995.** Heavy metal availability to plants in soils irrigated with wastewater from Mexico City. Water Sci. Technol. 12, 29-34.
- **Siebe C. y Cifuentes, E. 1995.** Environmental impact of wastewater irrigation in central Mexico: an overwiew. International Journal of Environmental Health Research, 5, 161-173

- **Siebe, C. y Fischer, W.R., 1996.** Effect of long-term irrigation with untreated sewage effluents on soil properties and heavy metal adsorption of Leptosols and Vertisols in Central Mexico. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde 159, 357 364.
- Smith JVS, Jankowski J, Sammut J. 2003. Vertical distribution of As(III) and As(V) in a coastal sandy aquifer: factors controlling the concentration and speciation of arsenic in the Stuarts Point ground-water system, Northern New South Wales, Australia. Appl Geochem 18:1479–1496
- **Stevenson, F. J. 1982.** Humus chemistry: Genesis, composition and reactions. Wiley, New York, USA.
- **U.S. Environmental Protection Agency. 1996.** A Citizen's Guide to In Situ Soil Flushing, Technology Fact Sheet, EPA/542/F-96/006.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils. Office of Solid Waste and Emergency Response. Technology Innovation Office. Washington D.C. 48 pp.
- Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J.1997.Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide.3^a ed. Technology Innovation Office, EPA. (http://www.epa.gov/tio/remed.htm.)
- **Vangronsveld, J. y S.D. Cunningham. 1998.** Metal-contaminated soils. In situ inactivation and phytorestoration. R.G. Landes Company. Georgetown, TX.
- **Volesky, B y Z.R. Holan. 1995.** Biosorption of heavy metals. Biotechnology Progress. 11 (3): 235-250.
- Volke S. T., Velasco T. J. A., 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT. México
- **Volke S. T., Velasco T. J. A., 2002.** Tecnologías de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT. México.
- **Xiong, Z.T. 1997.** Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species Sonchus oleraceus L. Environmental Pollution 97: 275-279.

Yang, x.; Feng, Y.; He, Z.; Stoffella, P.J. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. Journal of trace elements in medicine and biology, v.18, pp.339-353,