



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN

BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

**Fitoextracción de metales pesados de un suelo agrícola
por *Ricinus communis*: el efecto de las sustancias húmicas**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN

BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

P R E S E N T A:

IRVING GIOVANNY GONZÁLEZ SALAZAR

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARITZA LÓPEZ HERRERA

Mineral de la Reforma, Hidalgo 2015



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 Área Académica de Biología
 Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación

**M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
 DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 PRESENTE.**

Por este conducto le comunico que después de revisar el trabajo titulado **"Fitoextracción de metales pesados de un suelo agrícola por *Ricinus communis*: el efecto de las sustancias húmicas"**, que presenta el alumno de la Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación **Ing. Irving Giovanni González Salazar**, el Comité Revisor de tesis ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Comité Revisor.

PRESIDENTE	Dr. William Scott Monks Sheets
SECRETARIO	Dra. Ma. del Carmen Durán Domínguez de Bazúa
VOCAL	Dra. Maritza López Herrera
SUPLENTE	Dra. Claudia Romo Gómez



Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
 "Amor, Orden y Progreso"
 Mineral de la Reforma, Hgo., marzo 16 de 2015.

 DR. ORLANDO AVILA POZOS
 DIRECTOR DEL ICB



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
 Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,
 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel. +52 771 7172000 exts 66744
 Maestria-biodiversidad@hotmail.com



AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el sustento económico que me otorgó para la realización de mis estudios de maestría.

Al Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por haberme dado la oportunidad de formarme académicamente al estudiar en su programa de Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación.

A la Dra. Maritza López Herrera por todo su apoyo, amistad, magnífica conducción del presente trabajo de investigación, motivación, orientación, consejos, opiniones, paciencia, el no escatimar su tiempo en la culminación de este trabajo y sobre todo agradecer solemnemente su gran sentido humano. Por haber enseñado e inculcado en mí un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no hubiera podido tener una plena formación. A su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración, en mejores manos no pude haber caído.

Al Dr. William Scott Monks Sheets por sus consejos tan acertados, gran apoyo y formación de este trabajo de investigación.

A la Dra. Claudia Romo Gómez por su gran apoyo, disposición, enseñanzas transmitidas durante esta investigación.

A la Dra. Ma. del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por sus aportaciones en el enriquecimiento del trabajo escrito de la investigación.

Al Dr. Enrique Cruz Chávez por el apoyo, asesoría, experiencias y gran participación brindados durante esta investigación.

Al Sr. Andrés López Morales por haberme permitido realizar este trabajo de investigación en su predio agrícola, por su apoyo, enseñanzas y experiencias brindadas, mi agradecimiento expresado.

DEDICATORIA

A mis padres María Esther Salazar Chino y Javier González García porque me han dado todo lo que soy como persona, mis valores y principios, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nada a cambio.

A mis hermanos (as): Mayte Yuridiana, Fátima, Julio César, Kenia, Valeria, Selina Giovanini, Martha Rubí, Rosendo, Francisco Javier y Ricardo, por su valiosa motivación, cariño, ánimos y apoyo incondicional, los amo.

A mi tía Martha Salazar Chino por sus motivaciones y apoyo

A mi primo Abel Salazar Orzuna por sus ánimos y apoyo

A toda mi familia: Benitez Salazar, Salazar Orzuna, Salazar Cortés, Estrada Salazar, González García, a todos ustedes, este logro mío es logro suyo y mi esfuerzo valió la pena.

A ti corazón: Kenya Zapata Ibarra por ser un gran y determinante pilar durante estos últimos años de mi vida, apoyo, amor incondicional e incomparable y estar siempre conmigo en las buenas en las malas y en las peores, te amo mi chiquitita.

A la Dra. Ana Laura López Escamilla, Fernando Cuéllar González, Alejandra Pardo Zilger, Yuritzi Vargas por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio.

A Martin Rebolledo Méndez, Oscar Diego Zuñiga, Saúl F. Domínguez Guerrero, Jaime A. Escoto Moreno, Jorge Luis Becerra López, Arianna Rubí González Sánchez, Christian Ayala López, Emmanuel Alemán Canales, Irvin More, Esmeralda Salgado Hernández, Jaime Calderón Patrón.

Leovigilda Chino Mejía (†), Eluteria Salazar portillo (†), Rosendo Salazar Portillo (†), Natalio Martínez Villarga (†), Samir Ortiz (†) los tengo presentes.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Índice de tablas.....	<i>i</i>
Índice de figuras.....	<i>ii</i>
Glosario.....	<i>iv</i>
Listado de abreviaturas.....	<i>viii</i>
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Fitorremediación y su clasificación.....	5
2.2. Agentes quelantes orgánicos.....	6
2.3. Materia orgánica y sustancias húmicas (SH).....	7
2.3.1. Características de los ácidos fúlvicos (AF).....	8
2.4. Acumulación de metales por las plantas.....	12
2.4.1. Plantas hiperacumuladoras.....	14
2.4.2. Higuera y su potencial en la fitoextracción.....	16
2.5. Área de estudio y su problemática de contaminación.....	17
2.6. Justificación.....	20
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivo general.....	22
3.2. Objetivos particulares.....	22
3.3. Hipótesis.....	22

4. MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1. Área de estudio.....	23
4.2. Muestreo de agua.....	24
4.3. Muestreo del suelo.....	24
4.3.1. Muestreo inicial del suelo.....	24
4.3.2. Muestreo del suelo del cepellón de las plantas.....	25
4.4. Cultivo de las plantas de higuera.....	26
4.5. Aplicación de sustancias húmicas.....	26
4.6. Muestreo de las plantas.....	28
4.7. Índice de bioacumulación (IB).....	29
4.8. Factor de translocación (FT).....	30
4.9. Diseño experimental.....	30
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
5.1. Cuantificación de metales pesados en agua de río y agua de pozo.....	31
5.2. Análisis de parámetros físicoquímicos y metales pesados en la muestra inicial de suelo.....	31
5.3. Características físicoquímicas del suelo después de la aplicación de SH.....	31
5.4. Efecto de la aplicación de sustancias húmicas en la concentración de metales pesados en suelo.....	36
5.5. Efecto de la aplicación de sustancia húmicas en la bioacumulación de metales pesados en plantas de higuera.....	45
5.5.1. Aluminio.....	45
5.5.2. Cromo y manganeso.....	47
5.5.3. Níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn).....	51
5.6. Índice de Bioacumulación (IB).....	58

5.7. Factor de Translocación (FT).....	61
5.8. Capacidad de Intercambio Catiónico en raíces (CICr).....	65
5.9. Producción de masa seca.....	68
6. CONCLUSIONES	69
7. BIBLIOGRAFÍA	71
8. ANEXOS.....	111
8.1. Acervo fotográfico.....	111
8.2. Análisis estadístico de los datos experimentales.....	112
8.2.1. Análisis estadístico de metales en plantas.....	112
8.3. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación.....	120

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Concentración de metales pesados en agua río y agua de pozo.....	31
Tabla 2. Cuantificación de diversos parámetros del suelo en cuatro periodos de muestreo (0, 60, 120 y 180 d), y cuatro dosis de ácidos fúlvicos aplicadas cada 15 días (T, 2, 4 y 6 mL). Clasificación de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.....	32
Tabla 3. Clase textural del suelo de la zona de estudio en los diferentes periodos de muestreo y la aplicación de ácidos fúlvicos.....	33
Tabla 4. Concentración de metales pesados en suelo con aplicación de tres dosis de SH en tres periodos de tiempo.....	40
Tabla 5. Índice de bioacumulación de los metales pesados en plantas de higuera sometidas a dosis de SH.....	58
Tabla 6. Factor de translocación de los metales pesados en plantas de higuera sometidas a dosis de SH.....	61
Tabla 7. Valores de la CICr en plantas de <i>R. communis</i> L. Letras diferentes entre medias de la columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05).....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Teoría de la formación de SH a partir de la lignina.....	9
Figura 2.	Rutas de formación de humus propuestas por Stevenson fundamentadas en la formación de quinonas.....	10
Figura 3.	Formación de humus con base en la condensación de aminoacompuestos a partir de glúcidos.....	11
Figura 4.	Propuestas de las estructuras de los AF	13
Figura 5.	Respuestas típicas de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo.....	15
Figura 6.	Ubicación de la cuenca hidrográfica del área de estudio.....	23
Figura 7.	Ácidos fúlvicos comerciales.....	27
Figura 8.	Leonartida en estado natural.....	27
Figura 9.	Diagrama de distribución de las plantas de <i>R. communis</i> L. y concentración de AF aplicados durante la investigación (P: planta, 0, 2, 4, 6 mL diferentes concentraciones de SH aplicadas).....	28
Figura 10.	Concentración de Al en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	45
Figura 11.	Concentración de Cr en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	47
Figura 12.	Concentración de Mn en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	49
Figura 13.	Concentración de Ni en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	52
Figura 14.	Concentración de Pb en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	54
Figura 15.	Concentración de Zn en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).....	56

Figura 16.	Comportamiento de la CICr en diferentes periodos y sometidos a diferentes concentraciones de SH.....	67
Figura 17.	Producción de masa seca (kg) de plantas de <i>R. communis</i> L. 0, 2, 4, 6 se refiere a los mL de SH aplicados durante 180 días.....	111
Figura 18.	Aplicación de sustancias húmicas.....	111
Figura 19.	Cosecha de las plantas.....	111
Figura 20.	Planta con cepellón.....	111
Figura 21.	Lavado de raíces.....	111

GLOSARIO

Adsorción: Acción y efecto de adsorber.

Adsorber: Atraer y retener en la superficie de un cuerpo moléculas o iones de otro cuerpo.

Ápice: Extremo superior o punta de algo.

Apoplasto: Es el espacio exterior a la membrana plasmática en el que circula el agua y los solutos, constituido por las paredes celulares y los espacios entre las células. Es contrario a simplasto.

Banda de Caspari: Por Robert Caspari, botánico alemán: en las raíces de las plantas, una banda engrosada, de naturaleza cérea, que se extiende alrededor de las paredes tangenciales de las células de la endodermis. La existencia de esta capa restringe la difusión de agua e iones desde la corteza de la raíz hacia el cilindro central.

Cepellón: Según el diccionario de la lengua española es una pella de tierra que se deja adherida a las raíces de los vegetales para trasplantarlos. Pella es una masa que se une y aprieta, regularmente en forma redonda (RAE, 2015).

Cercetas: Nombre que reciben ciertas aves anátidas, la mayoría del género *Anas*.

Cormoranes: Género de aves suliformes de la familia *Phalacrocoracidae* conocidas vulgarmente como cormoranes. Son aves acuáticas que capturan peces zambulléndose bajo el agua.

Citoplasma: Parte del protoplasma, que en la célula rodea al núcleo. Espacio interior a la membrana celular, excluye al núcleo.

Desorción: Emisión de un fluido previamente absorbido por un material.

Endémico, ca: Propio y exclusivo de determinadas localidades o regiones.

Endodermis: El tejido más interior de la corteza de muchas raíces y muchos tallos, es una sola capa de células.

Eutrofización: Se define en ecología como el incremento de sustancias nutritivas en aguas dulces de lagos y embalses, que provoca un exceso de fitoplancton (RAE, 2015).

Exudados radicales: Fuente de aminoácidos, proteínas y enzimas, azúcares, ácidos orgánicos y vitaminas, entre otros. Estas sustancias, llamadas exudados radicales, pueden ser utilizadas por las bacterias, hongos o microorganismos como fuentes de energía o carbono, o como complemento nutricional.

Fitosideróforos: Ligandos producidos por las plantas. Aminoácidos no proteicos sintetizados por las plantas en condiciones de deficiencia de minerales como hierro y zinc (Suzuki *et al.*, 2008). Estas moléculas conforman ligandos hexadentados que coordinan el ion metálico con sus grupos aminos y carboxilos.

Floema: Es el tejido conductor encargado del transporte de nutrientes, especialmente azúcares, producidos por la parte aérea fotosintética y autótrofa, hacia las partes basales subterráneas, no fotosintéticas, heterótrofas de las plantas vasculares.

Fluere: Palabra latina para fluir. Afluente es una corriente de agua o líquida o fluido en general, secundaria, que se une a una principal, influente es la corriente inicial y efluentes son las corrientes de fluidos (líquidos o gases) de salida o terminales.

Gallaretas: Nombre común de varias aves acuáticas de la familia *Rallidae*.

Glúcido: Los glúcidos, carbohidratos, hidratos de carbono o sacáridos son biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, cuyas principales funciones en los seres vivos son el prestar energía inmediata y estructural. La glucosa y el glucógeno son las formas biológicas primarias de almacenamiento y consumo de energía.

Homeostasis: Conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al mantenimiento de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo.

Lignina: Del término latino *lignum* (madera). Polímero presente en las paredes celulares de organismos del reino *Plantae* y también en las *Dinophytas* del reino *Chromalveolata*. Es una sustancia que aparece en los tejidos leñosos de los vegetales y que mantiene unidas las fibras de celulosa que los componen, la lignina constituye el 25% de la madera. Este componente de la madera realiza múltiples funciones que son esenciales para la vida de las plantas. Por ejemplo, proporciona rigidez a la pared celular. Realmente, los tejidos lignificados resisten el ataque de los microorganismos, impidiendo la penetración de las enzimas destructivas en la pared celular.

Masa versus peso: La masa y el peso son diferentes propiedades, que se definen en el ámbito de la física. La masa es una medida de la cantidad de materia que posee un cuerpo mientras que el peso es una medida de la fuerza que es causada sobre el cuerpo por el campo gravitatorio. Todo eso fue descubierto por Isaac Newton. Por lo tanto la masa de un objeto no cambiará de valor sea cual sea la ubicación que tenga sobre la superficie de la Tierra (suponiendo que el objeto no está viajando a velocidades relativistas con respecto al observador), mientras que si el objeto se desplaza del Ecuador al Polo Norte, su peso aumentará aproximadamente 0.5% a causa del aumento del campo gravitatorio terrestre en

el Polo. En forma análoga, en el caso de astronautas que se encuentran en condiciones de microgravedad, no es preciso realizar ningún esfuerzo para levantar objetos del piso del compartimento espacial; los mismos “no pesan nada”. Sin embargo, dado que los objetos en microgravedad todavía poseen su masa e inercia, un astronauta debe ejercer una fuerza diez veces más grande para acelerar un objeto de 10 kilogramos a la misma tasa de cambio de velocidad que la fuerza necesaria para acelerar un objeto de 1 kilogramo. En la Tierra, una simple hamaca puede servir para ilustrar las relaciones entre fuerza, masa y aceleración en un experimento que no es influido en forma apreciable por el peso (fuerza vertical descendente). Si nos paramos detrás de un adulto grande que este sentado y detenido en la hamaca y le damos un fuerte empujón, el adulto se acelerará en forma relativamente lenta y la hamaca solo se desplazará una distancia reducida hacia adelante antes de comenzar a moverse en dirección para atrás. Si ejerciéramos la misma fuerza sobre un niño pequeño que estuviera sentado en la hamaca se produciría una aceleración mucho mayor, ya que la masa del niño es mucho menor que la masa del adulto (Wikipedia, 2015).

Metal pesado: Comprende 40 elementos químicos que tienen una densidad mayor $>5 \text{ g/cm}^3$, sin embargo esta definición no es útil respecto al estudio de los efectos toxicológicos que algunos metales tienen sobre el ambiente y los seres vivos, así que otra definición de metal pesado que se ha adoptado es: “grupo de metales o metaloides asociados con contaminación y toxicidad potencial” (Cornelis y Nordberg, 2007).

Membrana plasmática: La membrana plasmática, membrana celular, membrana citoplasmática o plasmalema, es una bicapa lipídica que delimita todas las células. Es una estructura formada por dos láminas de fosfolípidos, glucolípidos y proteínas que rodean, limita la forma y contribuye a mantener el equilibrio entre el interior (medio intracelular) y el exterior (medio extracelular) de las células. Regula la entrada y salida de muchas sustancias entre el citoplasma y el medio extracelular. Es similar a las membranas que delimitan los orgánulos de células eucariotas.

Orgánulos celulares: También llamados organelos, se refiere a las diferentes estructuras contenidas en el citoplasma de las células, principalmente las eucariotas, que tienen una forma determinada. La célula procariota carece de la mayor parte de los orgánulos. El nombre de orgánulos procede de la analogía entre la función de estas estructuras en las células, y la función de los órganos en el cuerpo.

Quelato: Producto soluble formado cuando ciertos átomos de un ligando orgánico donan electrones al catión. Los grupos carboxilo y los átomos de nitrógeno cargados negativamente poseen electrones que pueden ser compartidos de esta manera el cation queda aislado y no puede reaccionar químicamente hablando. Compuesto químico en donde

una molécula orgánica rodea a un ión metálico, evitando su hidrólisis y precipitación, es decir, el quelante impide que el metal reaccione químicamente (Cadahia, 2005).

Radical/radicular: Perteneciente o relativo a las raíces.

Rizósfera: Es la parte del suelo inmediata a las raíces vivas y que está bajo la directa influencia de éstas.

Savia: Líquido que circula por los vasos de las plantas pteridofitas y fanerógamas y del cual toman las células las sustancias que necesitan para su nutrición.

Tomate de cáscara: En náhuatl, *tómatl* designa frutos que no son dulces ni amargos. Su nombre científico es *Physalis coztomatl* Moc. y Sess.o *Physalis angulata* L. El jitomate otro fruto que no está emparentado con el anterior, *Lycopersicon esculentum* Mill., es el fruto con ombligo, de *xictli* ombligo y *tómatl*, tomate.

Toxicidad: Grado de efectividad de una sustancia tóxica. Se trata de una medida que se emplea para identificar al nivel tóxico de diversos fluidos o elementos, tanto afectando un organismo en su totalidad (por ejemplo, el cuerpo del ser humano) como sobre una subestructura (una célula).

Xilema: Es un tejido complejo que moviliza agua y sales minerales (nutrientes) siguiendo la dirección de la corriente transpiratoria. Está formado por elementos traqueales (traqueidas y elementos de los vasos), fibras y parénquima.

Nota: esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

LISTADO DE ABREVIATURAS

AF	Ácidos fúlvicos
°C	Grados centígrados
cm³	Centímetro cúbico
AH	Ácidos húmicos
BI	Bases intercambiables
CIC	Capacidad de intercambio catiónico
CICr	Capacidad de intercambio catiónico en raíces
d	Días
DTPA	Pentaacetato de dietilentriamina
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
EPA	Por sus siglas en inglés, EPA Environmental Protection Agency (Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos).
EPT	Elementos potencialmente tóxicos
EE. UU.	Estados Unidos
FT	Factor de translocación
g	Gramo
gl	Grados de libertad
IB	Índice de bioacumulación
kg	Kilogramo
L	Litro
LD	Límite de detección
m³	Metros cúbicos
mm³	Milímetros cúbicos
MC	Muestra compuesta

mg	Miligramo
MI	Muestra inicial de suelo
mL	Mililitro
MO	Materia orgánica
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
SH	Sustancias húmicas
T	Testigo

RESUMEN

La persistencia y aumento de metales pesados tóxicos en el ambiente es un serio problema especialmente en zonas impactadas por las actividades antropogénicas como la irrigación de suelos agrícolas con aguas residuales. El problema de estos metales es que no son biodegradables, pueden bioacumularse en los organismos y formar parte de la cadena alimenticia. Este tipo de contaminación es un riesgo para la salud de todos los organismos, incluido el ser humano. Ante esta problemática es necesario aplicar técnicas de remediación de suelos sustentables, amigables con el ambiente y que no causen efectos negativos. En este sentido la fitoextracción ofrece una opción sustentable ante este problema. Además se ha demostrado que la aplicación de quelantes orgánicos favorece la fitoextracción, debido a que aumentan la biodisponibilidad de los metales pesados del suelo hacia la planta. En el presente estudio se determinó la fitoextracción de Al, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni y Zn por la planta de higuera (*Ricinus communis* L.) al aplicar ácidos fúlvicos como agentes quelantes. El método estadístico empleado para evaluar los resultados de la concentración de metales pesados en suelo, raíz, tallo, hoja y peciolo, las características fisicoquímicas del suelo y el efecto de las sustancias húmicas (SH) en la biodisponibilidad de los metales fue el de bloques al azar con arreglo factorial; mientras para el índice de bioacumulación y el factor de translocación no se aplicó ningún análisis estadístico. Los resultados muestran que las características del suelo no se modificaron con las sustancias húmicas y, con excepción del Cd, las plantas de *R. communis* L., presentaron bioacumulación de Al, Cr, Pb, Mn, Ni y Zn en diferentes órganos, en relación con las diferentes concentraciones de SH y con el tiempo de aplicación, el índice de bioacumulación, IB, fue >1 para los metales estudiados y el factor de translocación, FT, fue >1 sólo para el Cr, Mn, Ni, Pb y Zn. Ambos, IB y FT, permiten considerar a esta especie con potencial para la hiperacumulación de Pb, Ni y Zn con la adición de sustancias húmicas. Para el resto de los metales Al, Cr y Mn se presentó el comportamiento de absorción de una planta acumuladora.

Palabras clave: suelo agrícola, fitoextracción, metales pesados, higuera (*Ricinus communis* L.), sustancias húmicas

ABSTRACT

The persistence and increase of toxic heavy metals in the environment is a serious problem especially in areas impacted by human activities such as irrigation of agricultural soils with sewage. The problem is that these metals are not biodegradable, they can bioaccumulate in organisms and be part of the food chain. This type of pollution is a risk to the health of all organisms, including humans. Given this problem you need to apply sustainable remediation techniques, soil environmentally friendly and do not cause adverse effects. In this sense phytoextraction offers a sustainable option to this problem. Furthermore it has been shown that the application of organic chelating promotes phytoextraction, as they increase the bioavailability of heavy metals from the soil to the plant. In the present study phytoextraction of Al, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni and Zn were determined by the castor plant (*Ricinus communis* L.) in applying fulvic acids as chelating agents. The statistical method used to evaluate the results of the concentration of heavy metals in soil, root, stem, leaf and petiole, the physicochemical characteristics of the soil and the effect of humic substances (SH) on the bioavailability of metals was the block random factorial arrangement; while the index for bioaccumulation factor translocation and no statistical analysis was applied. The results show that soil characteristics were unchanged with the humic substances, the plants of *R. communis* L. presented bioaccumulation metals (Al, Cr, Pb, Mn, Ni and Zn) in various organs, in relation with different concentrations of SH and the time of application, the bioaccumulation index, $BI > 1$ was studied for metals as well as the translocation factor, $TF > 1$, only for Cr, Mn, Ni, Pb and Zn with the exception of Cd that was not absorbed (below detection limit). Both, BI and TF, indicate that this species has a potential for hyperaccumulation of Pb, Ni, and Zn with the addition of humic substances. For the rest of studied metals, Al, Cr, and Mn, absorption behavior is that of an accumulator plant.

Keywords: Agricultural soil, phytoextraction, heavy metals, *Ricinus communis* L., humic substances

1. INTRODUCCIÓN

La mayor fuente de contaminación por metales pesados es generada por causas antropogénicas como las actividades mineras, prácticas agronómicas, emisiones industriales y la aplicación de lodos y sedimentos residuales (Shen *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2007). En el estado de Hidalgo se encuentra la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán (RBBM), dentro de la cual corre un río de aproximadamente 100 km de longitud dividido en tres regiones: río Tulancingo, río Venados y el río Metztitlán, con su desembocadura en la laguna de Metztitlán. Desechos y aguas residuales se vierten a lo largo del curso del río y con estas aguas se irrigan cultivos agrícolas que se producen en los alrededores de la vega del río. Además, el intenso uso de agroquímicos aumenta el grado de contaminación propiciando la acumulación de metales pesados en suelos destinados para la agricultura (Pilon-Smits, 2005; Chen *et al.*, 2007). Cultivos agrícolas como el maíz, el trigo y la alfalfa, entre otros, que se producen en esa zona, quedan expuestos a este tipo de contaminación. Estos metales se acumulan en diferentes órganos de las plantas, principalmente en el tejido foliar (Lucho *et al.*, 2005). Existen diferentes técnicas o procesos de extracción (físicos, químicos y biológicos) encaminados a la remediación de suelos contaminados por metales pesados. Dentro de las técnicas biológicas de fitorremediación se encuentra la fitoextracción, la cual se basa en la capacidad hiperacumuladora de algunas plantas (capacidad de acumular el metal > 1% de la masa seca de la planta) (Chaney *et al.*, 2000; Prasad y Freitas, 2003; Singh *et al.*, 2003). Las plantas hiperacumuladoras generalmente presentan una considerable producción de biomasa debido a que utilizan más energía en los mecanismos necesarios para adaptarse a las altas concentraciones de metal en sus tejidos (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

La higuera (*Ricinus communis* L.) también denominada higuera del diablo, higuera infernal, palmacristi, ricino, tlapatl (González-Garduño, 2008 en Elia Méndez Salazar, 2008), es una planta que tiene la capacidad de acumular iones metálicos y puede cultivarse en suelos contaminados (Prasad y Freitas, 2003; Rockwood *et al.*, 2004; Giordani y Cecchi, 2005). Se desarrolla en diferentes climas, no es comestible ni para el ser humano ni para los animales. Es fácil de cultivar produciendo una cantidad considerable de biomasa pero sobre

todo de tejido foliar. Además, el aceite generado en sus semillas (“aceite de ricino” o “aceite de castor”) por sus características físicas y químicas, puede ser usados como biocombustible (Santos *et al.*, 2015).

Por otro lado, las sustancias húmicas (SH) formadas principalmente durante la degradación de la materia orgánica, son una mezcla compleja de compuestos orgánicos y con un amplio rango de tamaño molecular (Stevenson y Cole, 1999). Se pueden clasificar y fraccionar en los siguientes grupos: ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas (Kononova, 1996), los AF contienen una mayor cantidad de grupos funcionales, particularmente grupos –COOH. Estos grupos funcionales se asocian con iones de metales alcalinotérreos (normalmente Ca y Mg) y metales de transición (Cu, Fe, Cd, Zn, V y Ni), pudiendo complejarse facilitando la remoción de metales y sustancias químicas orgánicas de origen antropogénico. Las SH aplicadas al suelo son capaces de formar complejos con la mayoría de los metales pesados haciéndolas útiles en procesos de fitoextracción (Weng *et al.*, 2002). La contaminación por metales pesados (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni y Zn) en suelos y cultivos de interés agrícola es un grave problema debido a su imposibilidad de biodegradarse y su tendencia a bioacumularse en los cultivos (Radwan y Salama, 2006).

El objetivo de esta investigación es evaluar la capacidad de bioacumulación de metales pesados de las plantas de higuera (*R. communis* L.) y el efecto de la aplicación de sustancias húmicas para potencializar el proceso de fitoextracción de metales pesados al favorecer la solubilidad metálica y facilitar su absorción y movilidad en los diferentes órganos vegetales.

2. ANTECEDENTES

2.1. Fitorremediación y su clasificación

La fitorremediación es considerada una alternativa para reducir los contaminantes del agua, el aire y suelo (Vassilev *et al.*, 2004; Nascimento y Xing, 2006) mediante el uso de plantas herbáceas, gramíneas y vegetación arbórea (Prasad y Freitas, 2003). El término se refiere al empleo de plantas para remover, degradar, contener o inmovilizar contaminantes orgánicos e inorgánicos en suelo, sedimentos y aguas residuales (Pilon-Smits, 2005; Glick, 2010). La fitorremediación reduce los contaminantes del ambiente sin alterar las propiedades del suelo (EPA, 2000).

Dentro de la diferentes técnicas de fitorremediación se encuentra la fitoextracción, en donde las plantas extraen los metales del suelo y los concentran en sus diferentes órganos considerando su capacidad para acumular cantidades considerables de estos elementos (Peuke y Rennenberg, 2005; Chaney *et al.*, 2007).

La fitoextracción puede ser:

1. Continua. La cual depende de las cualidades genéticas de la planta para hiperacumular metales pesados.
2. Asistida con quelantes. Basada en la aplicación de agentes quelantes inorgánicos (sintetizados artificialmente) y agentes quelantes orgánicos procedentes de fuentes orgánicas. Ambos quelantes se aplican al suelo para mejorar la absorción de metales por las plantas (Alkorta *et al.*, 2004). Con esta técnica se incrementa la absorción y translocación de los metales a los tejidos vegetales (Quartacci *et al.*, 2006; 2007) reduciendo las limitantes de la primer técnica haciendo a la fitoextracción asistida una estrategia prometedora de tal forma que, desde el año 2000, se han incrementado las investigaciones encaminadas a reducir el tiempo que se requiere en la descontaminación de metales pesados (Verkleij *et al.*, 2009).

Una consideración muy importante al utilizar agentes movilizantes es evitar el riesgo de contaminación en aguas superficiales y subterráneas (Nowack *et al.*, 2006). Entre todas las

técnicas se prefiere la fitoextracción debido a su valor económico y científico (Peuke y Rennenberg, 2005).

2.2. Agentes quelantes orgánicos

Los exudados radiculares (ácidos orgánicos, fosfatasas ácidas, sustancias fenólicas y fitosideróforos) son importantes en la solubilización de los nutrientes esenciales que se encuentran poco solubles y favoreciendo así su absorción mediante procesos de acidificación y formación de complejos órgano-minerales. La mayoría de los metales son capaces de formar complejos (unión entre un átomo metálico y un ligando, que puede ser un anión o molécula polar). En diversas investigaciones se han evaluado ácidos orgánicos (Chen *et al.*, 2003), aminoácidos (Kerkeb y Krämer 2003; Singer *et al.*, 2007) y agentes quelantes para facilitar la disponibilidad de los metales pesados en el suelo y potencializar la fitoextracción (Evangelou *et al.*, 2006; Turgut *et al.*, 2004) aunque se recomienda el uso de quelantes para mejorar la absorción metálica (Leštan *et al.*, 2008; Meers *et al.*, 2008).

El quelato es un compuesto químico en donde una molécula orgánica rodea a un ión metálico, evitando su hidrólisis y precipitación, es decir, el quelante impide que el metal reaccione químicamente (Cadahia, 2005). Los quelantes pueden ser utilizados en la agricultura y al aplicarlos al suelo incrementan la translocación de metales pesados hacia los tallos de la planta (Álvarez-Fernández *et al.*, 2003) y los ácidos orgánicos de baja masa molecular pueden modificar positivamente la biodisponibilidad de los metales al reducir la desorción del metal en las partículas del suelo (Schmidt, 2003), mientras que en el agua reducen la formación de los complejos solubles (Evangelou *et al.*, 2007).

Aunque las plantas hiperacumuladoras tienen una extraordinaria capacidad para absorber metales pesados, esta capacidad depende de la biodisponibilidad de los metales en el suelo y, particularmente, del suministro a partir de formas menos disponibles para la planta (Wenzel *et al.*, 2003). Huang y colaboradores (1997) investigaron el comportamiento de la dilución del Pb para aumentar su absorción por tallos de maíz y de chícharo acidificando el suelo con la aplicación de quelantes para facilitar dicha absorción. En otros estudios se ha demostrado que la acidificación del suelo favorece la hiperacumulación de

Cd o Zn, aunque un exceso de acidez puede inducir fitotoxicidad de Al o Mn (Wang *et al.*, 2006). Por el contrario, la absorción y acumulación de Ni se incrementó con el aumento de pH (Li *et al.*, 2003). Una de las claves del éxito para la fitorremediación depende de elegir una enmienda para el suelo en combinación con una planta hiperacumuladora para maximizar la absorción metálica (Elkhatib *et al.*, 2001).

2.3. Materia orgánica y sustancias húmicas (SH)

La materia orgánica es de vital importancia para la fertilidad del suelo, debido a que mejora la agregación de las partículas, la absorción de agua, el contenido del aire, disminuye el escurrimiento superficial (Bellapart, 1996), favorece además, la capacidad de intercambio catiónico, la resistencia a los cambios de pH, el desarrollo radicular y da origen a ciclos biológicos de nutrientes en el suelo (Honorato, 1993). El humus corresponde a la materia orgánica del suelo en un estado de degradación y a la fecha este término se utiliza cuando se habla de la materia orgánica que ha sido degradada. Vista al microscopio aparece como una materia amorfa, compleja, macromolecular y polimérica (Yufero y Carrasco, 1973), que describe el abono de origen animal o vegetal, a la materia orgánica del suelo y a las sustancias húmicas que se forman en él (Stevenson, 1982).

Desde la perspectiva geológica, las SH son el último producto de descomposición aerobia de toda la materia viviente en presencia de agua. Para que el proceso de humificación (descomposición) se lleve a cabo, se requiere que los restos de plantas y animales sean degradados sucesivamente por al menos tres especies de diferentes microorganismos apropiados y termina con la formación de una de las sustancias más complejas de la tierra (Schnitzer y Khan, 1972; Gjessing, 1976).

Las SH son una mezcla compleja de compuestos orgánicos de un amplio rango de tamaño molecular que incluyen compuestos solubles en agua, pequeñas y grandes moléculas insolubles formadas principalmente durante la degradación de la materia orgánica (Stevenson y Cole, 1999), presentan una rápida biodegradación en el suelo en comparación con otras sustancias orgánicas favoreciendo su preferencia al momento de elegir un quelante para emplearse en la fitoextracción de metales pesados como el B, Cd,

Mo y Pb, ya que pueden formar complejos con la mayoría de los metales pesados (Weng *et al.*, 2002) y tienen ventajas ambientales (Johnson *et al.*, 2009; Wang y Mulligan, 2009; Wang *et al.*, 2010); por ejemplo, se ha observado una mayor extracción de Zn y Cu al aplicar sustancias húmicas (SH) al suelo con un pH de 7 (Halim *et al.*, 2003). Otro estudio demostró también que al aplicar SH con soluciones de 12.5 mL se favorece la absorción de Zn y Cu (Bianchi *et al.*, 2008). Otros autores reportan la afinidad de los ligandos de los ácidos orgánicos para Cu y Zn (Di Palma *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2007; Zou *et al.*, 2009), mientras que por otro lado, se han reportaron efectos benéficos de la SH sobre el desarrollo vegetal en suelos donde las concentraciones de metales pesados no son muy elevadas (Bianchi *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010). Con la formación de complejos de SH-Cu y SH-Zn se puede reducir la toxicidad de los metales en suelo (Hernández-Allica *et al.*, 2006; Bianchi *et al.*, 2008). Es más recomendable aplicar SH en pequeñas y múltiples dosis que en una sola aplicación y en dosis elevadas (Leštan *et al.*, 2008).

En los últimos 100 años han aumentado los estudios de las SH y de acuerdo a Kononova (1996), éstas se pueden clasificar y fraccionar, como ya se mencionó antes, en: ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas.

2.3.1. Características de los ácidos fúlvicos (AF)

Los AF son moléculas de baja masa molecular, extremadamente complejas, solubles en agua en pH ácido o básico. Etimológicamente el término proviene de: *ful*, (del inglés antiguo que quiere decir *lleno de*) y *vic*, (del francés antiguo *vicare* que significa *cambio, alteración*). Aunque la palabra *fulvus*, que proviene del latín, significa amarillo intenso, amarillo rojizo, dorado o color moreno. La manera correcta de llamar a estos compuestos es ácidos fúlvicos y no ácido fúlvico, ya que no consisten en una sola sustancia, sino que son un conjunto de variados y complejos materiales orgánicos (Ehrlich, 2002).

Se han propuesto diferentes rutas mediante las cuales se forman las SH. Sin embargo, sólo dos de los mecanismos propuestos especifican la formación de los AF. Stevenson (1982), menciona que las SH son el resultado de modificaciones hechas a estructuras de lignina (Figura 1).

De acuerdo con esta teoría, la lignina es utilizada incompletamente por microorganismos, generando residuos que terminan siendo parte del humus del suelo. Al alterarse la lignina, pierde grupos metoxilo (-OCH₃) y la generación de *o*-hidroxifenoles y la oxidación de cadenas alifáticas que generan grupos -COOH. Este material sufre cambios desconocidos que dan origen a los AF.

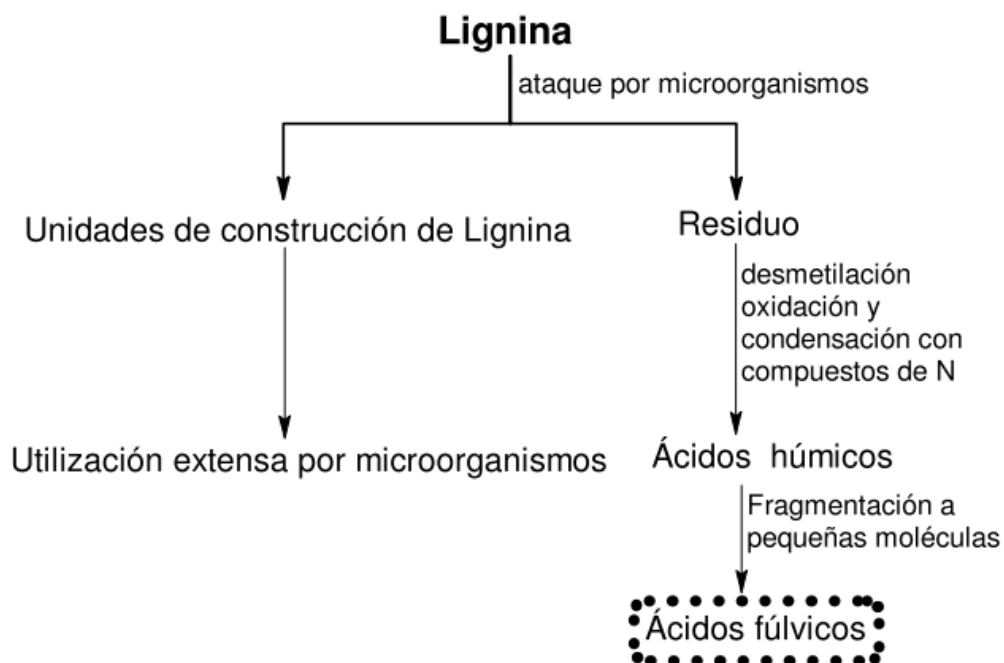


Figura 1. Teoría de la formación de SH a partir de la lignina (Stevenson, 1982)

Aunque la teoría de la lignina es la más común para explicar la formación de las SH, la mayoría de los investigadores apoyan las rutas propuestas por Stevenson (1982), en las cuales se involucran quinonas (Figura 2).

En el esquema superior (Figura 2), no se completa la formación de AF, sin embargo, en la inferior (Figura 3), se muestra que los ácidos y aldehídos fenólicos son liberados a partir de la lignina durante la degradación microbiana y posteriormente se transforman a polifenoles.

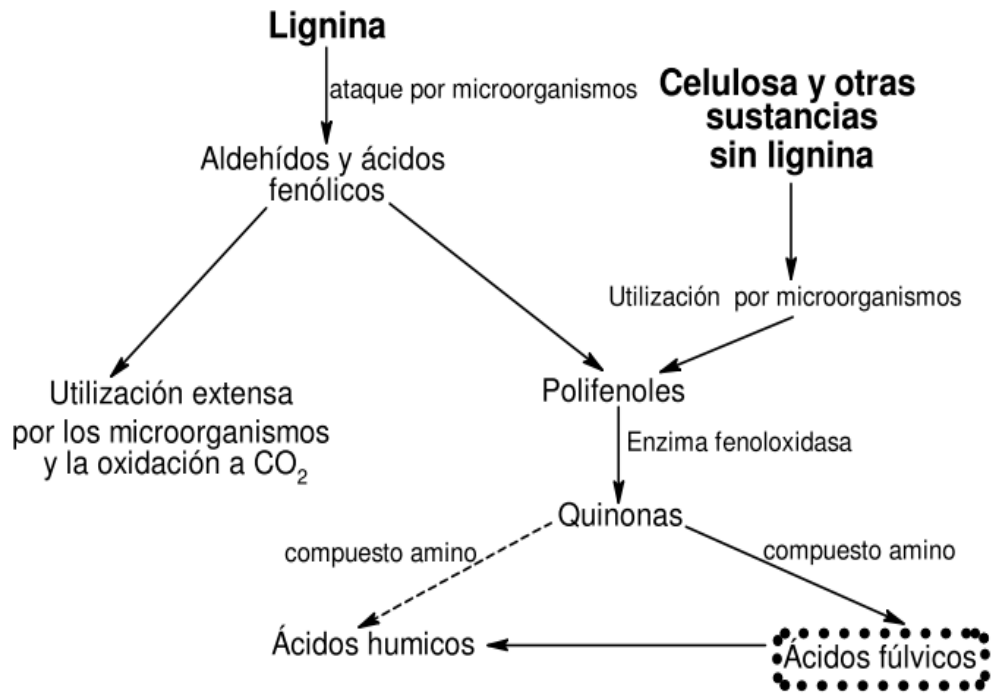
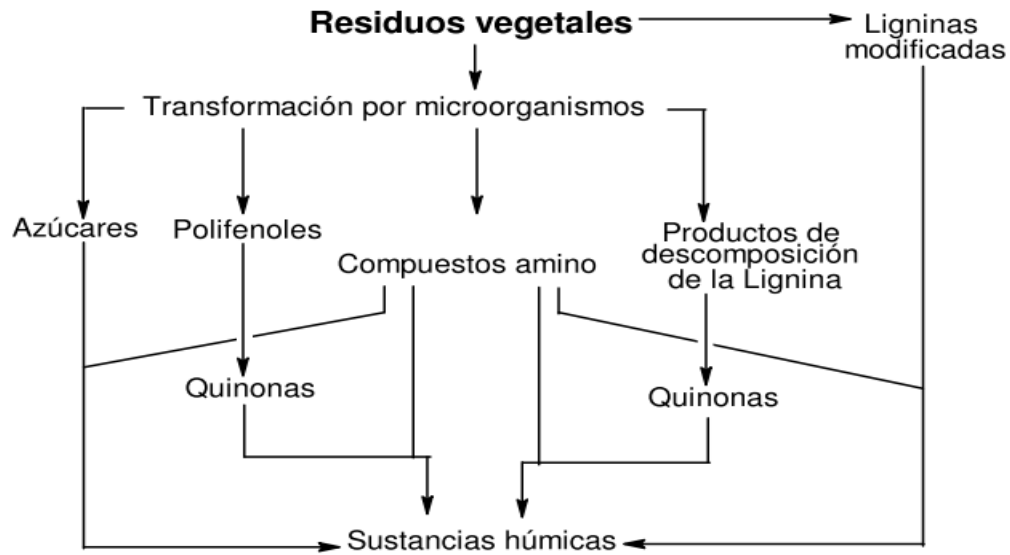


Figura 2. Rutas de formación de humus propuestas por Stevenson fundamentadas en la formación de quinonas (Stevenson, 1982)

Los polifenoles formados mediante una conversión enzimática pasan a quinonas, las cuales se polimerizan en presencia o ausencia de compuestos amino para formar moléculas de ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) que posteriormente se polimerizan para generar más AH.

Pero además, (Stevenson 1982), propone un tercer mecanismo para la formación del humus, basado en la condensación de aminocompuestos que involucran glúcidos (Figura 3).

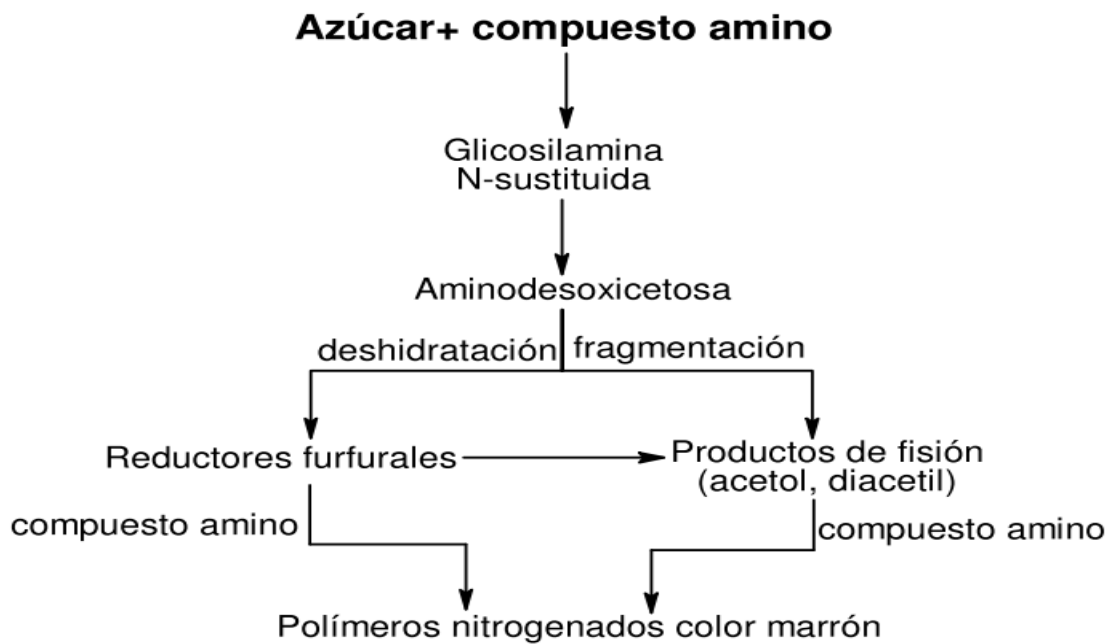


Figura 3. Formación de humus con base en la condensación de aminoácidos a partir de glúcidos (Stevenson 1982)

Estructuralmente los AF contienen una mayor cantidad de grupos funcionales, particularmente grupos $-COOH$, es decir la cantidad de grupos ácidos en los AF (900-1400 mmol/100 g) es considerablemente mayor que en los AH (400-870 mmol/100 g). Otra diferencia relevante es que en los AF la mayor parte del oxígeno se encuentra en diferentes grupos funcionales ($-COOH$, OH , $=C=O$); mientras que en los AH el oxígeno forma parte del núcleo de su estructura.

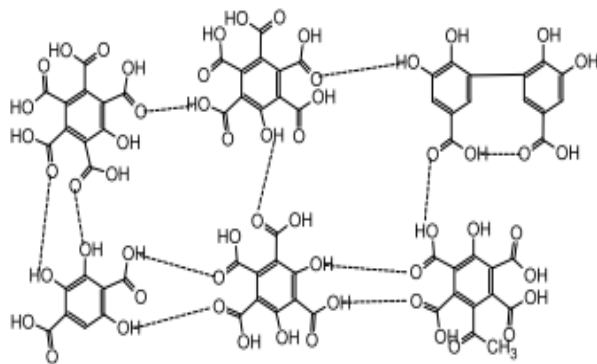
Actualmente no existe una estructura molecular específica de las SH, debido a que no son ni de tamaño ni de composición homogénea. Sin embargo existen varias propuestas para la estructura tanto de AH como para AF (Figura 4). Estructuralmente para los AF la mayoría de las estructuras hipotéticas coinciden en ser moléculas pequeñas (en relación con las propuestas para los AH), con muchos grupos funcionales que, en su mayoría son grupos $-\text{COOH}$, tienen pocos anillos en su estructura y los grupos funcionales están unidos mediante cadenas alifáticas.

Los grupos carboxílicos, hidróxidos, aminas, algunos anillos aromáticos y cadenas laterales alifáticas de gran longitud proporcionan un carácter global de ácido y una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC). En un suelo, a mayor CIC, mayor es la capacidad y disponibilidad de nutrientes, y por ende aumenta su fertilidad, además incrementa la disponibilidad de los nutrimentos (Stevenson, 1982). Los grupos funcionales de los AF que contienen en su estructura átomos de oxígeno se asocian con iones de metales alcalinotérreos (normalmente Ca y Mg) y metales de transición (Cu, Fe, Cd, Zn, V y Ni). Los cationes monovalentes como Na^+ y K^+ pueden formar enlaces electrostáticos débiles con un solo grupo funcional de los AF, mientras que los iones metálicos divalentes pueden complejarse con dos sitios aniónicos adyacentes formando un quelato, que posee una unión mucho más fuerte que la formada con cationes monovalentes (Steinberg, 2003).

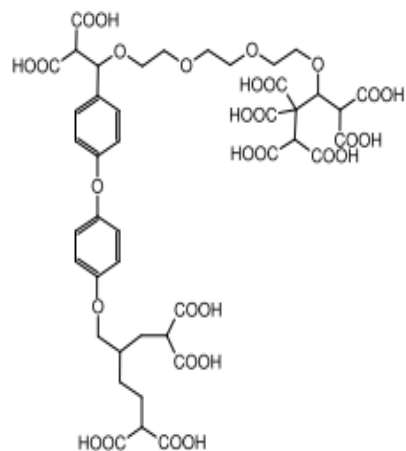
Por estas razones las SH funcionan como reguladores del pH en suelos y en el ambiente pueden complejar y remover metales y sustancias químicas orgánicas de origen antropogénico.

2.4. Acumulación de metales por las plantas

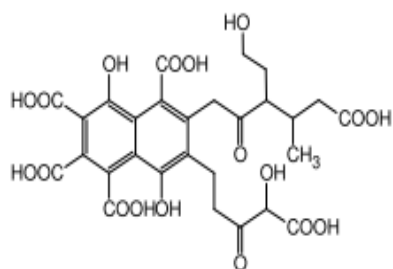
En condiciones normales las plantas absorben concentraciones metálicas de elementos esenciales del 1 al 3%. Sin embargo, cuando las concentraciones metálicas se acumulan y aumentan en un organismo vivo en comparación a su medio ambiente se le denomina bioacumulación (Angelova *et al.*, 2004). En plantas, este concepto se refiere a la incorporación de contaminantes en los tejidos y algunos de estos elementos llegan a ser más fitodisponibles que otros (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).



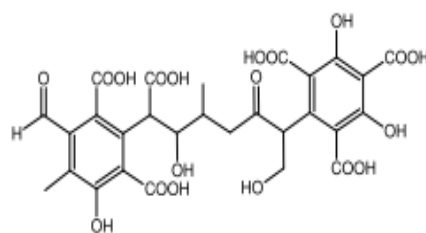
(a) Schnitzer y Khan, (1972)



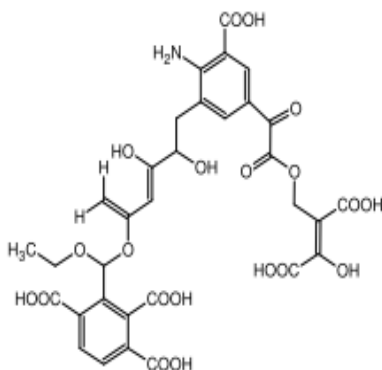
(b) Stevenson, (1982)



(c) Buffle, (1977)



(d) Manahan, (1989)



(e) Grenthe y Puigdomenech, (1997)

Figura 4. Propuestas de las estructuras de los AF por: a) Schnitzer y Khan (1972), b) Stevenson (1982), c) Buffle *et al.* (1977), d) Manahan (1989) y e) Grenthe y Puigdomenech (1997)

La acumulación metálica en plantas, es una respuesta fisiológica ante altas concentraciones de metales pesados en el suelo y varía entre especies (Rattan *et al.*, 2005). A través del tiempo se han descubierto especies vegetales silvestres, endémicas o procedentes de zonas mineras con potencial para la fitorremediación (Willey, 2007). En el siglo XIX (Baumann, 1885) se identificaron plantas capaces de acumular altos niveles de Zn, desde entonces las plantas se han clasificado dependiendo de su mecanismo de tolerancia a los metales pesados (Figura 5):

- Excluseras: especies que restringen elevadas concentraciones de absorción o translocación de metales pesados hacia las hojas (Baker, 1981).
- Indicadoras: plantas que sólo reflejan la concentración metálica del suelo (Baker, 1981).
- Acumuladoras: permiten la distribución de los metales en una forma no tóxica hacia las partes aéreas, aunque algunas especies acumuladoras se han adaptado a diferentes rangos de absorción de los metales pesados (Co, Ni, Zn por ejemplo) sin mostrar síntomas visibles de toxicidad.
- Hiperacumuladoras: el término hace referencia a plantas que, establecidas en suelos contaminados pueden acumular >1.000 mg/kg de Ni de masa seca en las partes aéreas (Llugany *et al.*, 2007).

2.4.1. Plantas hiperacumuladoras

Las plantas nombradas hiperacumuladoras tienen una excepcional habilidad para acumular altas concentraciones de metales en sus tejidos (Chaney *et al.*, 1997; McGrath y Zhao, 2003). Este tipo de plantas generalmente presentan en sus tejidos, concentraciones de metales entre 10 y 100 veces más que las plantas acumuladoras sin mostrar síntomas de toxicidad (Chaney *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 2007). Las plantas que acumulan 100 mg/kg de Cd (0.01%) o más de 500 mg/kg de Cr (0.05%) en masa seca pueden ser consideradas hiperacumuladoras (Baker *et al.*, 2000), algunas plantas pueden hiperacumular también el Zn, Cd (Pilon-Smits, 2005), Ni (Singer *et al.*, 2007) y Pb (Chandra *et al.*, 2005). En las pasadas tres décadas cientos de hiperacumuladoras

han sido descubiertas y se han realizado diversos estudios sobre la tolerancia y acumulación de metales pesados (Kupper *et al.*, 2004; Ebbs *et al.*, 2009; Barcelo y Poschenrieder, 2011) y de 1997 al 2011 se han reportado especies hiperacumuladoras de Au (*Brassica juncea*), As (*Pteris vittata*), Cd (*Thlaspi caerulescens*), Co (*Haumaniastrum robertii*), Cu (*Haumaniastrum katangense*, *Aeollanthus biformifolius*), Mn (*Macadamia neurophylla*, *Alyxia rubicaulis*), Ni (*Alyssum bertolonii*, *Berkheya coddii*, *Phyllanthus serpentinus*), Pb (*Thlaspi rotundifolium* subsp), Se (*Astragalus pattersoni*, *Astragalus racentosus*), Tl (*Biscutella laevigata*, *Iberis intermedia*), U (*Atriplex confertifolia*, *Zea mays*), Zn (*Thlaspi calaminare*) (Poschenrieder *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2001; Mojiri, 2011).

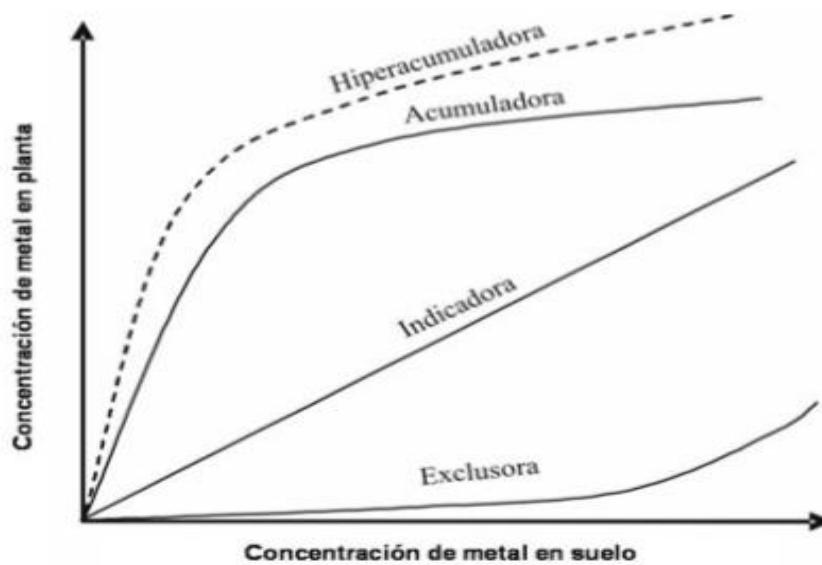


Figura 5. Respuestas típicas de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo (Adriano, 2001)

Las plantas hiperacumuladoras están extendidas taxonómicamente en todo el reino vegetal y se han reportado más de 400 especies (Baker *et al.*, 2000) de este total, el 75% son hiperacumuladoras de Ni (Baker y Brooks, 1989; Brooks, 1998), mientras que para el Zn se han reportado 16 especies (Brooks, 1998) y una cantidad considerable ha demostrado su capacidad para absorber dos o más elementos (Yang *et al.*, 2004) aunque se siguen buscando especies con potencial para emplearse como hiperacumuladoras (Clemens, 2002; Yang *et al.*, 2002). También se han demostrado diferencias en la capacidad de absorción de

las plantas hiperacumuladoras con bajos y altos niveles de metales pesados (Peng *et al.*, 2005).

Una hiperacumuladora puede tolerar y acumular en los tejidos más de 10 mg/kg de Hg, 100 mg/kg de Cd, 1000 mg/kg de Co, Cr, Cu, Pb y Ni, y 10,000 mg/kg de Zn y Mn (Baker *et al.*, 2000). Para que una planta sea considerada hiperacumuladora de Cd debe concentrar niveles de 3 a 10 mg/kg de masa seca (Ghosh y Singh, 2005), otros consideran que una hiperacumuladora de Cd debe acumular y tolerar 0.1 mg/g en sus brotes (Baker *et al.*, 2000). Por ejemplo, *Thlaspi caerulescens* es capaz de acumular más de 10,000 ppm de Cd en masa seca de sus tejidos (Lombi *et al.*, 2000). Otros ejemplos de plantas hiperacumuladoras de Cd son *Arabidopsis halleri* y *Thlaspi praecox* pertenecientes a la familia *Brassicaceae*; la especie *Sedum alfredii*, perteneciente a la familia *Crassulaceae* ha sido identificada como co-hiperacumulador ya que no sólo hiperacumula Cd sino también de Zn y Pb (Tian *et al.*, 2010). La especie *Pteris vittata* también tiene características de hiperacumuladora ya que reduce las concentraciones de As soluble en el agua (Ma *et al.*, 2001; Gonzaga *et al.*, 2006). Para Mn se ha reportado la especie *Australian gossia* (Fernando *et al.*, 2009) y para Cu *Crassula helmsii* (Küpper *et al.*, 2009).

2.4.2. Higuierilla y su potencial en la fitoextracción

La higuierilla (*Ricinus communis* L.) es una especie vegetal que pertenece a la familia *Euphorbiaceae* y ha demostrado potencial para emplearse en la fitorremediación de metales pesados por su alta producción de biomasa (Giordani y Cecchi, 2005; Mahmud *et al.*, 2008). Es una planta nativa de África tropical pero se ha desarrollado en regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo. Se ha comprobado que la planta de higuierilla es capaz de extraer Cd del suelo y adicionalmente, a partir de sus semillas se obtiene el “aceite de castor” o aceite de ricino útil en la producción de biodisel (Huang *et al.*, 2011), en Brasil ha sido considerada como una buena alternativa para estos fines (Oliveira *et al.*, 2008).

Esta especie ha sido objeto de varios estudios que muestran su tolerancia y capacidad de hiperacumulación de diferentes elementos metálicos; como el Cd, Zn, Ni (Prasad, 2001) y Pb (Romeiro *et al.*, 2006). Al aplicar diferentes dosis de Ni en el suelo (0, 150, 300, 600 ppm) se demostró su capacidad de bioacumular este metal en raíz, tallo, hoja y semillas

(Giordani y Cecchi, 2005). Se ha reportado su potencial en la fitoextracción de K, Fe, Ni, Zn, Mn Cr, Pb, Cd y Co al adicionar al suelo DTPA extraíble (Gupta y Sinha, 2007). En suelos contaminados con aceite lubricante, se determinó la presencia de Mn, Ni, Pb y V en raíces, tallos y hojas (Vwioko *et al.*, 2006) de *Ricinus communis* L.

Se han realizado también investigaciones encaminadas a potencializar la capacidad de absorción de metales pesados en higuera. En una investigación se utilizaron dos cepas de bacterias promotoras de crecimiento (*Pseudomonas* sp. PsM6 y *P. jessenii* PjM15) en plantas de higuera desarrolladas en macetas para evaluar la absorción de Ni, Cu y Zn, y los resultados mostraron que una de las cepas (PsM6) potencializaba la absorción de determinados metales (Ni y Zn) mientras que la otra facilitaba la absorción de Cu (Rajkumar y Freitas, 2008). Por otro lado, en otro trabajo se aplicó EDTA y ácido cítrico al suelo en plantas de higuera y concluyeron que al aplicar EDTA esta especie demostró una alta absorción y tolerancia de Pb (Ananthi *et al.*, 2012).

2.5. Área de estudio y su problemática de contaminación

Dentro del estado de Hidalgo se encuentra ubicada la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlan (RBBM), sitio en donde se llevó a cabo el presente trabajo; se localiza en el centro del Estado y comprende la cuenca de la Barranca de Metztitlán, localizada entre los paralelos 98° 23' 00" y 98° 57' 08" longitud oeste y 20° 14' 15" y 20° 45' 26" latitud norte, con elevaciones entre 1,000 y 2,000 msnm.

Esta zona de reserva, está comprendida dentro de la Región Hidrológica Río Pánuco (RH26), y comprende parte de las subcuencas Río Calabozo, Río Los Hules, Río Amajac y Río Metztitlán. Según la CONANP (2003), el principal rasgo hidrológico superficial de la RBBM lo conforma el Río Venados (Río Grande Tulancingo al sur de la reserva y Río Metztitlán al norte). El Río Venados corre de SE a NO y al norte de la reserva desemboca en la Laguna de Metztitlán.

El clima en términos generales es seco y semiseco cálido en diferentes partes, lo que se determina por el efecto de sombra de lluvia que la Sierra Madre Oriental ejerce sobre esta región. En época de lluvias, en verano, los vientos alisios descargan su humedad sobre la

zona y las partes elevadas donde se encuentran bosques de pino y encino, entre otros tipos de vegetación templado-fría. El clima cálido se debe a la altitud, mientras que las montañas al E y NE se elevan entre 1,800 a 2,600 msnm. En la vega la altitud va de 1,200 a 1,300 msnm en las cercanías de la laguna (SPP, 1992a). La precipitación media anual en la mayor parte de la Reserva no es superior a 500 mm, alcanzando 600 y hasta 700 mm en las escasas áreas enclavadas a mayor altitud. Dada la irregular topografía y el carácter calizo de la mayoría de las rocas en la reserva, la erosión hídrica es patente. Si bien en la zona prevalece el clima semiseco, las serranías y tierras más altas, aledañas a la reserva, a ambos lados del cauce del Río Venados son más húmedas generalmente. Parte de su precipitación escurre formando numerosos cauces que desembocan en el citado río, llevando consigo también el agua de las partes más húmedas (altas) y de la precipitación que ocurre en la reserva (CONANP-SEMARNAT, 2003). El Río Metztitlán tiene un escurrimiento promedio del orden de unos 125.7 mm³/año a la salida del Valle de Tulancingo y en la salida de la zona del Valle de Metztitlán 158.9 mm³/año; estos valores disminuyen en más de un 50% en época de estiaje, como promedio (Programa Estatal de Preservación y Conservación del Agua 2005-2011).

Sobresale la presencia de corrientes superficiales de agua que permiten la agricultura intensiva y la laguna de Metztitlán, que es una represa natural y está reconocida como un humedal de importancia internacional porque sirve como refugio a un gran número de aves migratorias, como patos, cercetas y gallaretas, pelícanos, cormoranes y espátulas, también sustenta un gran número de aves residentes como el garzón gris, el águila pescadora y las garcitas nocturnas (RBBM, 2011).

La actividad económica de mayor importancia en la región es la agricultura, en ella se emplea el 73% de la población de los municipios que conforman el área de la vega y se desarrolla en la modalidad de riego y temporal. La agricultura de riego de mayor importancia económica se realiza en el valle agrícola de Metztitlán en el que se siembran: frijol, maíz, ejote, calabacita, jitomate y chile, además de otros cultivos como sorgo. Se encuentran establecidos huertos de nogal y otros frutales en asociación con cultivos anuales, sobre todo en la parte norte de la barranca. Este tipo de agricultura también se lleva

a cabo en las comunidades que están asentadas cerca del río Almolón y Amajac; la región es considerada como una de las zonas agrícolas de mayor importancia en el estado. El desarrollo de esta área se debe a los factores naturales y a la infraestructura de riego, como la construcción en 1953 del Distrito de Riego de Metztlán, el cual funciona mediante la derivación de aguas del río Metztlán, por medio de dos presas y una red de canales; cuenta además con una capacidad para regar más de 4 859 ha (SEMARNAP, 1999).

De los principales problemas que enfrenta la RBBM están la extracción ilegal de cactáceas y/o depredación y saqueo de material vegetal, la contaminación de cuerpos de agua por el uso inadecuado y excesivo de agroquímicos en cultivos agrícolas, las descargas de aguas residuales y el cambio de uso de suelo con fines agrícolas.

En la zona de la reserva está prohibido verter o descargar aguas residuales, aceites, grasas, combustibles o cualquier otro tipo de contaminante, desechos sólidos, líquidos o de cualquier otro tipo. Se prohíbe también el uso de explosivos o cualquier otra sustancia que pueda ocasionar alguna alteración a los ecosistemas, además de arrojar sobre los cauces o infiltrar en los mantos acuíferos, aguas contaminadas que excedan los límites establecidos por las normas oficiales mexicanas (Programa de Conservación y Manejo de Reserva de la Biosfera Barranca de Metztlán, 2014). La realidad es que a lo largo del Río Tulancingo y Metztlán se encuentran asentadas industrias de producción agropecuaria, producción de alimentos, producción de bebidas, manufactura de textiles, de productos de madera, de productos químicos industriales, de productos de caucho, industria de productos minerales no metálicos e industria metalmeccánica. Se estima que los efluentes de tipo industrial producidos son vertidos al río Tulancingo, afluente del río Metztlán. Dentro de la región de Metztlán llegan del orden de 6, 375,000 m³/año, en los que se encuentran disueltos o semidisueltos una enorme variedad de residuos peligrosos, incluyendo metales pesados. Tanto los efluentes de origen industrial como los de origen doméstico son vertidos prácticamente sin ningún tipo de tratamiento al cauce receptor (río Tulancingo), el cual continúa su trayectoria hasta llegar a la localidad de Metztlán, en donde se le denomina río Metztlán, después de recibir las aguas del río Venados, finalizando en la Laguna del mismo nombre. El agua del río Venados es turbia, con abundantes sedimentos, dada la alta

productividad agrícola en la vega y el uso de agroquímicos como fertilizantes, insecticidas, herbicidas, acaricidas y fungicidas es intenso. Desde luego, una parte de estos productos va a dar al río, donde aparentemente se presentan procesos tanto de sedimentación como de eutrofización, además de algunos efectos tóxicos que afectan al ecosistema acuático, representando riesgos a la flora y la fauna, pero sobre todo para las poblaciones que habitan en las márgenes del río (CONANP-SEMARNAT, 2003). El cauce del Río Venados, en el poblado Puente de Venados, queda encañonado en un pequeño valle fluvial de uso agrícola y cultivo de frutales. Después de esa población se interna en el valle de Metztlán. A su paso capta las afluencias del río Metzquitlán y los escurrimientos laterales del valle, hasta descargar su caudal en la laguna de Metztlán, donde es aprovechado para uso piscícola (Camargo, 1999). Aunado a esta situación, se está comprobando que realmente las aguas provenientes del Río Tulancingo están altamente contaminadas, lo que puede alterar sus factores bióticos.

Todo lo mencionado anteriormente, permite conocer el riesgo al que están expuestas las comunidades y diferentes cultivos que se desarrollan en esta zona, considerando que estos últimos son de interés agrícola, ya sea para el hombre o como alimento para el ganado. De ahí la importancia de estudiar y establecer metodologías y técnicas que favorezcan la remediación de esta zona.

2.6. Justificación

Las actividades antropogénicas, aunado al vertedero de contaminantes industriales, agrícolas y domésticos hacia los ríos se promueve el deterioro y contaminación del medio ambiente aumentando el grado de contaminación. A diferencia de otros contaminantes, los metales pesados presentan persistencia, causan toxicidad y se acumulan en los organismos vivos y no pueden ser degradados. Sin embargo, existen técnicas químicas, físicas y biológicas de remediación para reducir los niveles de metales pesados en el suelo. Las primeras, además de tener un costo elevado, alteran negativamente las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, mientras que las técnicas biológicas se caracterizan por ser amigables con el medio ambiente ya que no dañan las propiedades físico-químicas

del suelo, además de ser una alternativa que ofrece un bajo costo y algunos de los metales extraídos pueden ser reciclados.

La fitoextracción es un método biológico mediante el cual se aprovechan las características de absorción de metales pesados por las plantas, pero al aplicar agentes quelantes orgánicos se puede potencializar la bioacumulación de estos elementos.

El uso de la higuera para este fin además del uso de SH podría ser una alternativa viable para la remediación de esta zona, al considerar que esta planta no es de uso alimenticio y el que el aceite producido por la semilla puede ser usado como biocombustible, dando a esta planta un valor agregado.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación en el suelo de diferentes dosis de sustancias húmicas en el potencial de fitoextracción y bioacumulación de metales pesados de plantas de higuera en un suelo agrícola contaminado con metales pesados.

3.2. Objetivos particulares

- Evaluar las características físico-químicas del suelo en tres periodos para determinar la influencia de la aplicación de sustancias húmicas sobre la biodisponibilidad de los metales pesados del suelo y su modificación.
- Determinar la concentración de metales pesados en plantas de higuera (*Ricinus communis* L.), agua y suelo y relacionarlas con las diferentes concentraciones de ácidos fúlvicos.
- Determinar el índice de bioacumulación y el factor de translocación.
- Evaluar la influencia de diferentes dosis de sustancias húmicas, en la capacidad de intercambio catiónico radicular (CICr) en plantas de *Ricinus communis* L. y su efecto en la fitoextracción de metales pesados.

3.3. Hipótesis

Al menos un tratamiento de los agentes quelantes orgánicos (SH) potencializará la fitoextracción de metales pesados de un suelo agrícola contaminado.

Las plantas de higuera cumplen con el rango de plantas hiperacumuladoras para la fitoextracción de al menos un metal pesado en relación a su biomasa.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

La investigación se inició en junio del 2013 en una parcela agrícola de 40 m² perteneciente a la comunidad de Xilotla en el municipio de Metztlán. La superficie del estudio se ubicó en la orilla del río, entre las coordenadas 20° 33' 96'' latitud norte y 98° 45' 56'' longitud oeste a una altura de los 1277 msnm.

El clima es templado-subcálido, con una temperatura media anual de 20°C y una precipitación de 437 mm por año, el período de lluvias es de junio a septiembre. La vegetación en la zona de la vega, en la parte baja y central se cultiva principalmente maíz y frijol, hortalizas como la calabacita, chile, tomate de cáscara y frutales como el nogal. La cuenca del río Metztlán (329,053.9 ha) cuenta con 75 km de longitud, 9 m de ancho en las partes más amplias y una profundidad promedio de 500 m (Figura 6) (SPP, 1992a, b).

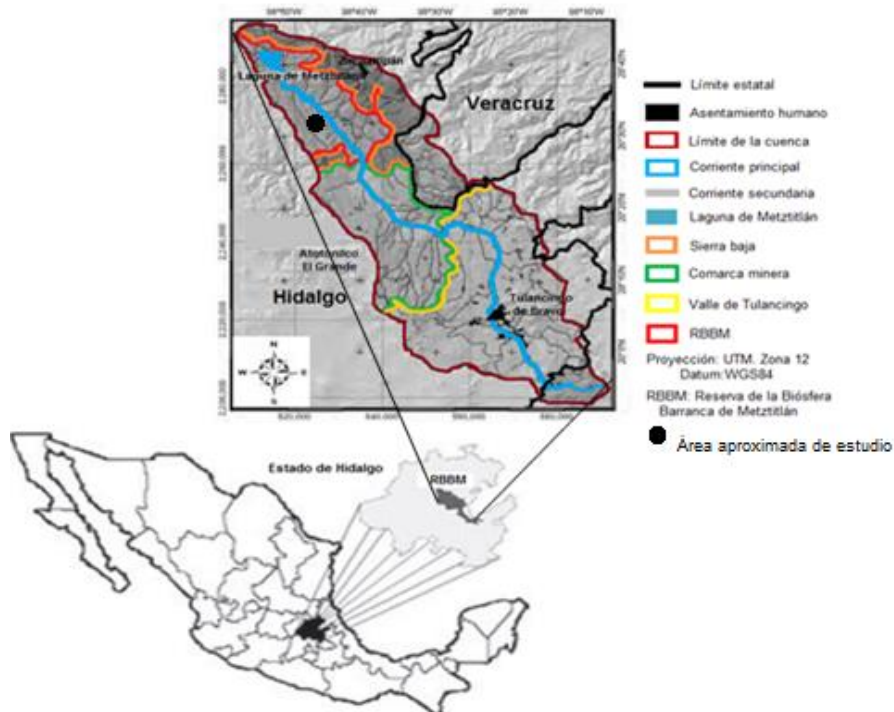


Figura 6. Ubicación de la cuenca hidrográfica del área de estudio (tomado y modificado de Valdez-Lazalde *et al.*, 2011)

4.2. Muestreo de agua

Se tomaron dos muestras de agua en una sola ocasión, una procedente del río Metztlán, con la cual se irrigan los cultivos y la otra del pozo con la que se prepararon las diferentes soluciones de los tratamientos del ácido fúlvico. Ambas muestras se colocaron en recipientes de polipropileno de 1 L, los cuales fueron lavados cuidadosamente primero con agua desionizada, después con una mezcla de agua y ácido nítrico (HNO_3 ; 1:1), para que al final los recipientes fuesen lavados con agua bidestilada. La muestra del agua del río de la Vega de Metztlán se tomó sumergiendo el frasco directamente, mientras que para coleccionar el agua de pozo se dejó fluir el agua del grifo durante tres minutos, para posteriormente llenar los recipientes. Las muestras se acidificaron con HNO_3 concentrado hasta un $\text{pH} < 2$ y se trasladaron en un recipiente con hielo al laboratorio dónde conservaron en refrigeración hasta su análisis.

Para la digestión de las muestras de agua se empleó el método de la EPA 3015 (EPA, 2007a) y un horno de microondas (MarsX, EE.UU.), posteriormente se determinaron los metales pesados (Al, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni y Zn) por espectrometría de absorción atómica (Spectra AA 880 Marca Varian, Australia), con tres réplicas por muestra. Las curvas de calibración para cada elemento analizado se realizaron a partir de soluciones estándar unielementales de alta pureza (HYCEL de México®) (NMX-AA-051-SCFI-2001).

4.3. Muestreo del suelo

4.3.1. Muestreo inicial del suelo

El experimento se estableció en una parcela conformada por surcos de 0.5 m de ancho y 36 m de largo. Se tomaron 21 muestras las cuales se colectaron entre los 10 y 40 cm de profundidad, cada 5 m de distancia entre un punto de muestreo y otro. Las 21 muestras se mezclaron uniformemente y mediante el procedimiento de los cuartetos se obtuvo una muestra compuesta de 2 kg, la cual se guardó en bolsas de polietileno para el análisis.

La muestra de suelo fue secada en una estufa (Model 40 GC Lab Oven) a una temperatura de 30°C hasta obtener un peso constante. Posteriormente la muestra se tamizó en una malla

de 2 mm de diámetro (malla 10) de acero inoxidable de acuerdo a la norma NMX-AA-132-SCFI-2006.

4.3.2. Muestreo del suelo del cepellón de las plantas

Con el fin de evaluar si hubo algún efecto de la aplicación de las SH al suelo se evaluaron algunas características físicoquímicas del suelo colectándose una muestra de suelo representativa. Esta actividad se realizó durante cada cosecha de las plantas y las muestras se extrajeron del cepellón de la planta. El cepellón es el conjunto de las raíces y el suelo, por el cual la planta queda enraizada y se puede trasplantar.

Del cepellón de cada una de las cuatro plantas del bloque cosechado se extrajeron aproximadamente cuatro kg de suelo, estos también se mezclaron y mediante el método de los cuartetos se obtuvo una muestra compuesta de 1 kg, la cual se manejó de la misma forma que el muestreo inicial. Esta muestra compuesta se obtuvo con la finalidad de establecer un nuevo método de análisis de suelo que permita ahorrar costos, al comparar la muestra inicial de suelo con la muestra compuesta. En total, se analizaron 15 muestras de suelo del cepellón de las plantas durante toda la investigación, cinco en cada una de las tres colectas.

Estas muestras se mantuvieron bajo temperatura ambiente durante siete días para su secado y se tomaron 100 g para cada una. Después todas las muestras se molieron en un mortero de porcelana para obtener una muestra de 3 a 5 g.

Para determinar si existe influencia de la aplicación de SH sobre la biodisponibilidad de los metales pesados del suelo, se evaluaron algunas características físicoquímicas de todas las muestras de suelo obtenidas (inicial y cepellón). Dentro de las características físicoquímicas se evaluó la textura mediante el método Bouyoucos (1962), materia orgánica (MO) por el método de Walkey Black (1947), capacidad de intercambio catiónico (CIC) por el método de titulación de Versenato (EDTA) (Jackson, 1976), pH por medio del potenciómetro con electrodo de vidrio, utilizando una relación 1:2.5 de suelo-agua y KCl (FAO-UNESCO, 1994) y se cuantificaron también las bases intercambiables (BI) (K, Ca, Mg y Na) las cuales se extrajeron con acetato de amonio 1N pH 7 (Chapman, 1995) y se determinaron por medio de la espectrofotometría de plasma (E-ICP) y se cuantificó la

concentración de Al, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni y Zn en cada una de las muestras de suelo mediante espectrofotometría de absorción atómica con flama (EAAF) (EPA, 1995).

4.4. Cultivo de las plantas de higuera

Las plántulas de higuera se produjeron en el invernadero del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Las semillas provenían de la comunidad de Arteaga, Coahuila. Se sembraron 50 semillas de higuera en un almacigo de 250 cavidades con peat moss como sustrato; cuando las plántulas alcanzaron una altura de 30 cm, se trasplantaron 28 de ellas en la zona de estudio. La densidad de plantación fue de 4 m lineales entre plantas.

Se presentaron dos tipos de riegos naturales y artificiales. Los riegos naturales fueron proporcionados por lluvias temporales presentadas en la zona de estudio y los riegos artificiales consistieron en bombear agua del río Metztitlán hasta que se acumulara una lámina de riego de 20 cm y después dejar esta lámina de riego durante aproximadamente 2 horas. Los riegos se aplicaron con la siguiente frecuencia: En el 2013 se suministraron los siguientes riegos artificiales: 17 y 27 de julio, 03 y el 17 de agosto y el 06 de septiembre. Los riegos naturales se presentaron del 15 al 18 de septiembre y durante este periodo se presentaron intensas lluvias que provocaron la inundación de la zona por el desbordamiento del río Metztitlán. En el mes de octubre se presentaron lluvias el 02 y el 13 de octubre. Para el resto de los meses que duró el experimento ya no se aplicó ningún riego artificial, no se presentaron lluvias y sólo se realizó la aplicación de las sustancias húmicas en solución.

4.5. Aplicación de sustancias húmicas (SH)

A los 30 días después de la plantación de las higueras se inició la aplicación de las SH, para lo cual se mezclaron dosis de 2, 4 y 6 mL del ácido fúlvico por litro de agua (agua de pozo) evaluándose seis repeticiones por tratamiento y un testigo (sin aplicación del ácido fúlvico). Esta mezcla se aplicó a cada planta, con su respectivo tratamiento, en dosis de 200 mL y se realizaron cada 15 días haciendo un total de 18 aplicaciones.

En este estudio se utilizaron como quelantes orgánicos ácidos fúlvicos (AF) comerciales de la marca CBMG® (Figura 7). Los AF son 100% orgánicos ya que se derivan de la leonardita (una forma oxidada de lignito) la cual está considerada como la mejor fuente para la extracción de ácidos húmicos y fúlvicos (Figura 8). Los AF usados tienen una pureza del 35.50%, 3.0% en nutrientes y 61.50% de compuestos inertes.



Figura 7. Ácidos fúlvicos comerciales



Figura 8. Leonardita en estado natural (tomadas de CB, 2009)

4.6. Muestreo de las plantas

En la Figura 9 se muestra la distribución de las plantas de *R. communis* L. bajo estudio. La primera cosecha de las plantas se realizó a cuatro meses del trasplante, éstas presentaron una altura promedio de 90 cm. Después de la primera cosecha, el resto de las plantas se muestrearon cada dos meses, realizando un total de tres cosechas.

Para la cosecha de las plantas se excavó a una profundidad aproximada entre 0 cm y 1 m, hasta formar un cepellón y extraer la planta con todo y suelo. Al cepellón se le quito la maleza y suelo, se colocaron en un recipiente con agua destilada y se trasladaron al laboratorio para lavar las raíces con un detergente libre de fósforo (LiquiNox®), enjuagarlos con agua desionizada, posteriormente se lavaron con una solución de HCL (0.1 N), se enjuagaron nuevamente con agua desionizada y se dejaron escurrir en papel secante.

P1 (T)	P2 (2 mL)	P3 (4 mL)	P4 (6 mL)	P5 (T)	P6 (2 mL)	P7 (4 mL)	P8 (6 mL)	P9 (T)	P10 (2 mL)
P11 (4 mL)	P12 (6 mL)	P13 (T)	P14 (2 mL)	P15 (4 mL)	P16 (6mL)	P17 (T)	P18 (2 mL)	P19 (4 mL)	P20 (6 mL)
P21 (T)	P22 (2 mL)	P23 (4 mL)	P24 (6mL)						

Figura 9. Diagrama de distribución de las plantas de *R. communis* L. y concentración de AF aplicados durante la investigación (P: planta, 0, 2, 4, 6 mL diferentes concentraciones de SH aplicadas)

Después de lavar y secar las raíces, se separaron el resto de los órganos de la planta (raíz, tallo, hojas, peciolo y fruto cuando estuvo presente), todas las estructuras se pesaron para obtener su masa fresca. Posteriormente, todos los órganos de las plantas se empaquetaron y se metieron a una estufa de secado (Model 40 GC Lab Oven) a una temperatura de 40°C durante una semana hasta masa constante para obtener la masa seca de cada uno de los órganos vegetales utilizando para ello una balanza analítica (Ohaus modelo AR1530). Durante el estudio se obtuvieron en total 48 muestras de los diferentes órganos vegetales (cuatro muestras por cada órgano vegetal).

Cada una de las muestras obtenidas se molieron en un mortero de porcelana y se pesaron de 3 a 5 g de cada uno de los órganos de las plantas (raíz, tallo, hoja, peciolo, las semillas no se molieron, sólo se almacenaron) de cada una de las cuatro plantas del bloque cosechado. Este procedimiento se realizó en cada uno de los muestreos realizados.

Se evaluó la concentración de metales pesados (Al, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni y Zn) en raíz, tallo, hoja y peciolo de cada una de las plantas cosechadas mediante espectrofotometría de absorción atómica con flama (EAAF, Agilent Technologies, modelo 240 FS, 200 series AA, marca Varian, Australia) (EPA, 1995), se determinaron dos réplicas por muestra compuesta para la evaluación de los metales totales. Además se cuantificó la capacidad de intercambio catiónico en los pelos radiculares (CICr) a través del método de Crooke (1964).

Todas las digestiones y análisis de cada una de las muestras colectadas se realizaron en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en el laboratorio de Química Ambiental.

4.7. Índice de bioacumulación (IB)

A partir de las concentraciones totales (mg/kg) de los metales pesados obtenidas mediante análisis por espectroscopía de absorción atómica con flama se obtuvo el índice de bioacumulación (IB) (ecuación 1), el cual permite comparar la concentración total del metal en las partes aéreas de la planta con respecto a la concentración metálica en el suelo y se ha empleado para evaluar la transferencia de los metales del suelo a la planta (Harrison y Chirgawi, 1989; Alloway, 1990):

$$IB = \frac{[metal\ total\ de\ la\ planta]}{[metal\ total\ del\ suelo]} \quad (1)$$

4.8. Factor de translocación (FT)

Es la relación de la concentración del metal en la parte aérea, con respecto a su concentración en las raíces. Este factor determina la transferencia del metal de la raíz a la

parte aérea de la planta, haciendo la relación entre la cantidad (mg/kg) del metal contenido en las partes aéreas y en la raíz de la higuera (Méndez y Maier, 2008) (ecuación 2).

$$FT = \frac{[metal\ total\ de\ la\ planta]}{[metal\ total\ de\ las\ raíces]} \quad (2)$$

4.9. Diseño experimental

El arreglo estadístico fue de bloques al azar con arreglo factorial, en donde los factores fueron la concentración de AF (0, 2, 4, 6 mL), tiempo (3 períodos) y órganos vegetales, haciendo un total de 7 bloques. Los bloques se conformaron de cuatro plantas a las cuales se les aplicaron los diferentes tratamientos de AF (Ver anexo). Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS®.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Cuantificación de metales pesados en agua de río y agua de pozo

Se evaluó la presencia de metales pesados (Al, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn) del agua proveniente del pozo de riego y la del río Metztlán y los resultados muestran que éstos se encuentran en concentraciones muy bajas, menores al límite de detección y no se presenta contaminación de metales pesados de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996 (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de metales pesados en agua río y agua de pozo

Origen del agua	Metales analizados (mg/L)						
	Al	Cd	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
NOM-001	-	0.2	1.0	-	2.0	0.5	10.0
Pozo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Río	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

NOM-001: NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales (se utilizaron los promedios mensuales como referencia). LD: Límite de detección del equipo. Los límites de detección para cada metal son (mg/L): Al = 0.03 mg/L, Cd=0.002, Cr=0.006, Mn=0.002, Ni=0.01, Pb=0.01 y Zn=0.001.

5.2. Análisis de parámetros fisicoquímicos y metales pesados en la muestra inicial de suelo

Antes de iniciar la aplicación de las sustancias húmicas, se determinaron parámetros fisicoquímicos de la muestra inicial de suelo (MI) (Tabla 2, Tabla 3) y se cuantificó la concentración de metales pesados en el suelo (Al, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn) (Tabla 4), en donde se muestra que dichas concentraciones no rebasan los límites máximos permitidos por la normatividad vigente (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004), encontrándose que la mayoría se encuentran presentes en el suelo donde se desarrollaron las plantas de higuera y se aplicaron las diferentes concentraciones de SH.

5.3. Características fisicoquímicas del suelo después de la aplicación de SH

De manera general, las características físico-químicas iniciales del suelo muestran que la clase textural es franco-limosa, con un pH medianamente alcalino (7.0), una CIC (capacidad de intercambio catiónico) de 3.28, un contenido medio de MO (materia orgánica) (3.10%) y las BI (bases intercambiables) se encuentran con valores altos conforme a la norma (NOM-021-SEMARNAT-2000) (Tabla 2).

Tabla 2. Cuantificación de diversos parámetros del suelo en cuatro periodos de muestreo (0, 60, 120 y 180 d), y cuatro dosis de ácidos fúlvicos aplicadas cada 15 días (T, 2, 4 y 6 mL). Clasificación de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000

Variable	Días	Tratamientos con SH (mL)					
		MI	MC	T	2	4	6
pH	0	7.84					
	60		7.90b	7.75ab	7.77ab	7.72ab	7.45a
	120		8.05b	7.67a	8.11b	8.23c	8.16bc
	180		8.11a	8.15b	8.13ab	8.07a	8.09a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Medianamente alcalino</i>					
CIC (cmol(+)/ Kg)	0 d	3.28 ^a					
	60		2.93 a	3.30 a	2.82 a	2.84 a	2.45 a
	120		3.17 a	2.86 a	2.58 a	2.76 a	2.86 a
	180		2.71 a	2.73 a	2.71 a	3.41 a	2.99 a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Muy bajo</i>					
Variables	Días	Tratamientos con AF (mL)					
		MI	MC	T	2	4	6
%MO/ Clasificación de acuerdo a la NOM-021	0	3.10					
	60		3.10 bc <i>Medio</i>	4.96 b <i>Alto</i>	4.59 b <i>Alto</i>	3.85 b <i>Alto</i>	3.72 b <i>Alto</i>
	120		2.85 c <i>Medio</i>	2.61 c <i>Medio</i>	4.10 b <i>Alto</i>	3.60 b <i>Alto</i>	1.99 c <i>Bajo</i>
	180		6.52 a <i>Muy alto</i>	1.99 d <i>Medio</i>	0.99 d <i>Bajo</i>	1.12 d <i>Bajo</i>	6.20 a <i>Muy alto</i>
BI (cmol(+)/kg S)							
Ca	0	61.82 a					
	60		61.19 a	58.73 a	68.88 a	63.99 a	63.99 a
	120		63.37 a	65.67 a	68.77 a	70.55 a	64.42 a
	180		63.49 a	66.00 a	73.39 a	76.87 a	67.44 a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Alta</i>					
Mg	0	5.61 a					
	60		5.62 a	5.42 a	5.54 a	5.67 a	5.86 a
	120		6.07 a	6.21 a	5.81 a	6.12 a	5.74 a
	180		6.25 a	6.09 a	7.00 a	7.06 a	6.62 a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Alta</i>					
Na	0	4.78 a					
	60		5.27 a	5.81 a	5.77 a	5.31 a	6.65 a
	120		10.92 a	6.71 a	5.29 a	6.37 a	5.23 a
	180		6.45 a	5.55 a	7.22 a	7.01 a	5.51 a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Alta</i>					
K	0	7.14 a					
	60		10.76 a	7.18 a	9.17 a	9.34 a	9.72 a
	120		12.51 a	7.72 a	7.33 a	7.96 a	7.15 a
	180		9.17 a	10.17 a	9.16 a	8.04 a	7.05 a
NOM-021-SEMARNAT-2000:		<i>Alta</i>					

NOM-021: NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestro y análisis. CIC: Capacidad de intercambio catiónico (cmol (+) kg⁻¹); BI: Bases intercambiables (mg/kg⁻¹); MO: materia orgánica; MI: muestra inicial de suelo; MC: muestra

compuesta de suelo, generada por las porciones de suelo adheridas a las raíces de cada planta muestreada. Medias con letras diferentes dentro de la misma línea, indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$)

Los resultados de las modificaciones en las proporciones de arena, limo y arcilla a lo largo del tratamiento, en general la clase textural se mantuvo sin cambios, esto permite determinar que la aplicación de las SH no modificaron esta característica (Tabla 3).

Tabla 3. Clase textural del suelo de la zona de estudio en los diferentes periodos de muestreo y la aplicación de ácidos fúlvicos

	Días	TEXTURA			Clasificación
		% Arena	% Limo	% Arcilla	
MI	0	29.60	70.00	0.40	Franco-limoso
MC	60	36.80	62.00	1.20	Franco-limoso
	120	39.60	60.00	0.40	Franco-limoso
	180	50.00	48.00	2.00	Franco-arenoso
0 mL	60	21.60	76.00	2.40	Franco-limoso
	120	48.00	50.00	2.00	Franco
	180	48.00	50.00	2.00	Franco
2 mL	60	29.60	70.00	0.40	Franco-limoso
	120	19.20	80.00	0.80	Franco-limoso
	180	48.00	48.00	4.00	Franco
4 mL	60	47.6	52.00	0.40	Franco-limoso
	120	27.20	70.00	2.80	Franco-limoso
	180	42.00	56.00	2.00	Franco-limoso
6 mL	60	47.6	52.00	0.40	Franco-limoso
	120	35.20	62.00	2.80	Franco-limoso
	180	40.00	58.00	2.00	Franco-limoso

MI: muestra inicial; MC: muestra compuesta (suelo adherido a raíces de plantas); 0, 2, 4, 6 mL: cantidad de ácidos fúlvicos aplicada)

Por otro lado, el pH del suelo se mantuvo todo el tiempo como medianamente alcalino. A los 60 días, las muestras con aplicación de SH mostraron una disminución en los valores de pH; sin embargo, a partir de los 120 y hasta los 180 días, se incrementó en todas las muestras, sin importar la aplicación de SH llegando inclusive al superar el valor obtenido en la muestra inicial (MI). Por lo general, la acidez del suelo es común en todas las regiones donde la precipitación es alta, lo que genera la lixiviación de grandes cantidades de bases intercambiables de los niveles superficiales de los suelos y la concentración de iones hidrógeno (H^+) excede a la de los iones hidroxilos (OH^-), este tipo de suelos pueden

contener grandes cantidades de Al, Fe y Mn. Además, la acidez del suelo se ve favorecida por la descomposición de ácidos orgánicos e inorgánicos; estos ácidos remueven grandes cantidades de bases por disolución o lixiviación (Buckman y Brady, 1966). Además, los suelos alcalinos son característicos de las regiones áridas y semiáridas, dominan los iones (OH)⁻, presentan un alto grado de saturación de bases y debido a la reacción alcalina o básica contienen bajas cantidades de Al, Fe y Mn (Tan, 1993). Sin embargo, a valores de pH alcalinos, los metales tienden a formar fosfatos y carbonatos, mientras a valores ácidos se generan especies iónicas libres y organometales solubles los cuales son más disponibles para las plantas (Hughes y Poole, 1991; Naidu *et al.*, 1997; Sandrin y Hoffman, 2007). Esto sucede porque a pH ácidos, más protones de H⁺ están disponibles para saturar los sitios de intercambio; y por lo tanto los metales tienen menos afinidad a formar precipitados insolubles con los fosfatos (Hughes y Poole, 1991). Para modificar el pH existen dos grupos de factores que cambian sus valores en el suelo: (1) los que aumentan el hidrógeno adsorbido y (2) los que aumentan el contenido de bases adsorbidas. Las SH son moléculas de bajo peso molecular, fácilmente degradables y con grandes cantidades de grupos COOH⁻, OH⁻, NH₂ y cadenas alifáticas de gran longitud y pueden aumentar el contenido de bases por las cargas negativas presentes en los grupos funcionales. Los grupos carboxilos e hidroxilos presentes en la molécula de las SH podrían explicar la tendencia a la alcalinidad del pH en este estudio, debido al incremento de la cantidad de iones OH⁻, presentes en mayor cantidad en suelos alcalinos en comparación al H⁺. La fracción del suelo que se presentó en menor cantidad fue la arcilla, indispensable para el intercambio catiónico entre las cargas negativas de ésta y los cationes del suelo.

La CIC es un parámetro que determina la cantidad total de cargas negativas que están disponibles sobre la superficie, es un indicador del potencial del suelo para retener e intercambiar nutrientes vegetales mediante la estimación de su capacidad para retener cationes; en esta investigación, la CIC presentó valores bajos en los tratamientos con sustancias húmicas en comparación a la MI y el testigo, lo cual puede deberse al bajo porcentaje de arcillas presentes en el suelo. De otra manera, la CIC establece el potencial de absorción de iones en el suelo (Tang *et al.*, 2009), debido a su influencia en la adsorción y desorción de cationes metálicos como por ejemplo, el Cu, Zn (Arias *et al.*, 2005) y Pb

(Altin y Degirmenci, 2005). La CIC registrada en todas las muestras fue muy baja, lo cual podría atribuirse a la casi nula proporción de arcillas; un suelo con un alto valor de CIC presenta una gran capacidad para retener cationes, por su alto contenido de arcillas y/o materia orgánica (Manrique *et al.*, 1991; Igwe y Nkemakosi, 2007). En diversas investigaciones han reportado una relación proporcional entre la CIC, textura, pH, densidad aparente y conductividad eléctrica, por su parte, la materia orgánica tiene también una fuerte influencia sobre la CIC, textura, capacidad amortiguadora (*buffer*, en inglés), disponibilidad de los metales pesados y su capacidad de adsorción sobre los constituyentes del suelo, disminuye cuando se presenta en bajas proporciones (Hettiarachchi *et al.*, 2003; Antoniadis *et al.*, 2008).

Con respecto a la MO, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos de SH y entre los periodos de evaluación. La MI presentó un valor medio y este valor se modificó con la aplicación de SH y entre los diferentes periodos de evaluación. La MC en los dos primeros periodos mantuvo un valor medio pasando a muy alto a los 180 d. El tratamiento testigo a los 60 d presentó un valor alto disminuyendo a medio para el segundo periodo y se mantuvo así hasta el final del tratamiento. Finalmente, en los tratamientos con SH, se observa que la el porcentaje de MO fue mayor en los tratamientos con menor concentración de SH en los dos primeros periodos, pero a los 180 días, el comportamiento se invirtió. Los tratamientos con las concentraciones de 2 y 4 mL terminaron con un porcentaje bajo de MO, pero en el tratamiento de 6 mL, este porcentaje fue muy alto, al igual que el de la MC (Tabla 2).

Probablemente se requiera de una mayor aplicación de estos compuestos o establecer el experimento en alguna zona donde no se presenten lluvias intensas o inundaciones que puedan lixiviar o alteren el contenido de MO en el suelo de estudio. Debido a que la MO tiene un papel significativo en la movilidad y disponibilidad de los metales pesados, por un lado puede reducir su biodisponibilidad por la adsorción sobre la formación de complejos estables con las SH (Liu *et al.*, 2009) y también puede tener efecto sobre las especies químicas de la solución del suelo, actuando como quelato promoviendo la disponibilidad

para las plantas (Vega *et al.*, 2004; McCauley *et al.*, 2009) y de acuerdo con Halim *et al.* (2003), la adición de SH reduce la fracción extractable de los metales pesados en el suelo.

Finalmente, las BI no presentaron diferencias significativas, y tampoco se observa una tendencia clara en el comportamiento de estas bases a lo largo del periodo de muestreo ni con la aplicación de SH, sin embargo los valores obtenidos se consideran altos y así se mantuvo durante toda la fase de evaluación (Tabla 2). Por otro lado, es probable que la aplicación de los grupos OH- y COOH- presentes en la estructura de las SH incrementara la concentración de las BI, éstas bases (Ca, Mg, K, y Na) son los elementos que neutralizan las cargas negativas y la acidez del suelo (Arévalo y Gauggel, 2008). Así, estos cationes y otros elementos con cargas positivas pudieron ser adsorbidos por la superficie negativamente cargada de estas partículas coloidales, las cuales se mueven de manera dispersa en una solución electrolítica (Havlin *et al.*, 1999; Mengel y Kirkby, 2000; Bohn *et al.*, 2001). Los valores que se obtuvieron en este estudio fueron muy altos; sin embargo, un alto contenido de BI puede explicar que el pH muestre una tendencia hacia la alcalinidad, ya que el exceso de estos iones determina mayor concentración de iones (OH-) que de iones (H) (Millar *et al.*, 1971).

5.4. Efecto de la aplicación de sustancias húmicas en la concentración de metales pesados en suelo

La movilidad y disponibilidad de los metales pesados son controladas por las características de adsorción y desorción de los suelos (Krishnamurti *et al.*, 1999). Estos procesos están asociados al pH, contenido de MO, CIC, potencial oxidación-reducción (redox), contenido de arcilla, carbonatos de calcio y óxidos de Fe y Mn (Kashem y Singh, 2001; Antoniadis *et al.*, 2008; Usman *et al.*, 2008). Los valores del pH en las reacciones de los metales catiónicos del suelo, dependen de la preferente adsorción de las especies metálicas hidrolizadas en comparación a los iones metálicos libres, de la influencia directa sobre la sorción/desorción, la precipitación/disolución, la formación de complejos y reacciones redox (Harter, 1983). Bajo estos fundamentos, el pH desempeña un papel importante sobre la determinación de la especiación, solubilidad, movimiento y disponibilidad de los metales

en el suelo (Mühlbachová *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2010). Sin embargo cada elemento tiene un comportamiento particular, dependiendo el valor del pH que se presente en el suelo.

A los 60 días después de la aplicación de SH, la concentración de Cr estuvo por debajo del LD, las concentraciones de este metal se comportaron de la misma manera el resto del experimento, es decir sólo fue detectado antes de aplicar las SH. El Cr es un elemento que presenta varios estados de oxidación desde Cr⁽²⁺⁾ a Cr⁽⁶⁺⁾, en donde el estado trivalente y hexavalente son los más estables (Katz y Salem, 1994). En la mayoría de los suelos el predomina como Cr^{III}, un estado muy estable en suelos y presenta muy baja solubilidad (Barnhart, 1997; Ashley *et al.*, 2003). La mayor cantidad de Cr se presentó durante los primeros 60d; esto se puede atribuir a que la mayoría del Cr^{III} fue inmovilizado debido a su adsorción y complejación con el suelo. No obstante, en un rango de pH de neutro a alcalino el Cr^{III} se vuelve insoluble, poco móvil (Kozuh *et al.*, 2000; Adriano, 2001) y su solubilidad en el suelo puede incrementarse mediante la formación de complejos solubles bajo condiciones de pH bajo y alto contenido de materia orgánica (Avudainayagam *et al.*, 2003), exudados radicales y la presencia de ácidos orgánicos de baja masa molecular en el suelo (Jones y Darrah, 1994). Otro reacción que pudo haber generado reducción de Cr en el suelo es la oxidación de Cr^{III} a Cr^{IV} la cual es favorecida por el oxígeno, dióxido de manganeso, humedad, elevadas temperaturas en el suelo (Cary, 1982; Calder 1988) y se ha reportado que esta oxidación aumenta lentamente por compuestos de baja masa molecular (James y Bartlett, 1983a,b). Los ácidos fúlvicos son complejos de bajo peso molecular y su aplicación no aumentó significativamente la concentración de los metales en el suelo. En algunos trabajos experimentales se ha determinado que la aplicación de aminoácidos es menos efectiva en la movilización de Cr en comparación a los ácidos carboxílicos y se considera que tienen una limitada capacidad para la movilización de nutrientes (Jones y Darra, 1994; Srivastava *et al.*, 1999). No obstante, adiciones de ácidos orgánicos de baja masa molecular (ácidos carboxílicos y aminoácidos) al suelo favorecieron el crecimiento de plantas de tomate significativamente e incrementaron la acumulación de Cr^{III} sugiriendo la existencia de una interacción entre el Cr^{III} y ligandos orgánicos que promueven la formación de ligandos orgánicamente móviles de Cr^{III} (Srivastava *et al.*, 1999). Griffin *et al.* (1977) mencionan que el Cr^{III} es adsorbido de 30-300 veces más en los minerales de

arcilla del suelo que el Cr^{IV} y que la CIC en suelos alcalinos aumenta la adsorción de especies hidrolizadas de Cr^{III} (Griffin *et al.*, 1977); probablemente el bajo contenido de Cr sea por la baja proporción de arcilla, materia orgánica y CIC del suelo.

Para el Al, Ni y Zn, si encontraron diferencias significativas con respecto a las dosis de SH y los días de evaluación; la concentración disminuye con el tiempo de aplicación de las SH, presentándose menores concentraciones a los 180 días. A los 60 días en todas las concentraciones incluyendo el testigo, la concentración de estos metales no presentó cambios con respecto a la evaluación inicial, fue a partir de los 120 días de aplicación que hubo una disminución significativa y continuó con esta tendencia hasta los 180 días, la disminución más importante se dio en la concentración de 6 mL. El Al en la corteza terrestre se encuentra formando complejos aluminio-silicato, los cuales se presentan en un estado inmóvil y no pueden ser absorbidos por las plantas (Driscoll *et al.*, 1988). Sin embargo, bajo condiciones hídricas adecuadas, el Al aumenta su disponibilidad, ya que se puede solubilizar (Moffat, 1999; Gallardo *et al.*, 2005). La concentración de Al en el suelo en este experimento cambió bajo las aplicaciones de AF al aumentar la concentración de Al para la MC y la dosis de 6 mL con respecto a la MI. No obstante, estas concentraciones no presentaron cambios significativos en comparación al suelo de la dosis testigo. Este efecto se puede atribuir a que los ácidos orgánicos complejaron este metal (Suthipradit *et al.*, 1990; Casierra-Posada y Aguilar-Avendaño, 2007), debido a que los grupos ácidos pierden sus protones y esto facilita la formación de enlaces con Al. Otro factor que pudo haber influido es el pH, ya que bajo condiciones alcalinas la complejación de las AF-Al aumenta (McBride, 1994) y el Al se precipita como $\text{Al}(\text{OH})_3$, una forma insoluble (Cumming y Weinstein, 1990).

De los diferentes estados de oxidación que presenta el Ni, la forma que se presenta en la fracción sólida del suelo es como Ni^{II} (McGrath, 1995) y se encuentra adsorbido en compuestos orgánicos e inorgánicos (Uren, 1992). En los compuestos orgánicos, el Ni se puede encontrar en superficies de cationes orgánicos o inorgánicos, iones libres y en complejos metálicos quelatados (EHC, 1991; Bennett, 1982). Los factores del suelo que mayor influyen sobre su disponibilidad y movilidad son la textura (Karaca, 2004; Weng *et*

al., 2003) y el pH (Weng *et al.*, 2004; Roque-Rossel *et al.*, 2010). Bajo condiciones ácidas de pH se incrementan los compuestos de Ni, Cu y Zn (Kandeler *et al.*, 2000; Chaudhuri *et al.*, 2003) debido a que su solubilidad aumenta, mientras a pH alcalino su disponibilidad disminuye y por lo tanto es más disponible en suelos ácidos que en suelos ligeramente neutros y alcalinos (McLaughlin, 2002; Wyszowska y Wyszowski, 2003; Florea y Busselberg, 2006). Sin embargo, el contenido de materia orgánica, arcilla, Fe y Mn son factores que también influyen sobre su disponibilidad en el suelo (Ge *et al.*, 2000; Suavé *et al.*, 2000; Tye *et al.*, 2004). Varios investigadores han observado estas asociaciones de la materia orgánica con la formación de quelatos en diferentes tipos de suelo (Camargo *et al.*, 1989; Alleoni, 2000; Mellis y Casagrande, 2001). El Ni así como otros metales pesados, forman complejos con varios constituyentes orgánicos del suelo, entre estos con los ácidos húmicos y fúlvicos, presentes en la materia orgánica (Stevenson, 1991). Halim *et al.*, (2003) demostraron que al aplicar sustancias húmicas al suelo, formaron complejos con el Ni y pudieron aumentar su biodisponibilidad. En este estudio, durante los primeros 60 días, la aplicación de los ácidos fúlvicos aumentó significativamente la concentración de Ni en sólo una de las muestras de suelo (Tabla 4). Roque-Rossel *et al.* (2010) reportan que el pH es el principal factor que condiciona la disponibilidad del Ni; en este sentido, el valor de pH que concentró la mayor cantidad de Ni en el suelo fue de 7.90. Este valor difiere a los resultados obtenidos por varios autores, quienes mencionan un incremento en la adsorción de Ni cuando el pH del suelo fue cercano a 7.0 (Schulthess y Huang, 1990; Scheidegger *et al.*, 1996; Mellis y Casagrande, 2001). A un pH alrededor de 7.0 y 7.5, el Ni²⁺ tiende a reducir su concentración del suelo debido a que en estos rangos compite con el Cu²⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺ por los sitios de intercambio (Rodela *et al.*, 2002). Posiblemente, los valores de Ni a los 120 y 180d fueron bajos al ser sustituidos por el Cu²⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺ u otros metales pesados. Sin embargo, incluso con la muestra de suelo que presentó la más alta concentración de Ni bajo la presencia de ácidos fúlvicos, no puede afirmarse que las sustancias húmicas aumenten la concentración de este metal en el suelo debido a que después de los 60d, se realizaron mayor número de aplicaciones de los ácidos fúlvicos y la concentración de Ni en las muestras de suelo a los 120 y 180 días no aumentaron significativamente.

En cuanto al resto de los factores de suelo analizados en las muestras, las bases intercambiables obtuvieron valores muy altos, se presentó un bajo contenido de materia orgánica, arcilla, CIC y probablemente estos valores contribuyeron a inhibir las bajas concentraciones de Ni en el suelo.

Tabla 4. Concentración de metales pesados en suelo con aplicación de tres dosis de SH en tres periodos de tiempo

AF	DPA	Concentración de metales en suelo (mg/kg suelo)					
		Al	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
NOM-147			280.0		1600.0	400.0	
MI	0	0.1357 bc	0.0011 a	0.0224 a	0.0289 bc	0.0037 ab	0.0333 bc
	60	0.1452 c	0.0013 a	0.0230 a	0.0341 c	0.0041 ab	0.0410 c
MC	120	0.1084 bc	<LD	0.0357 a	0.0007 a	0.0021 ab	0.0026 a
	180	0.0085 a	<LD	0.0390 a	0.0007 a	0.0023 ab	0.0015 a
	60	0.1429 c	<LD	0.0224 a	0.0304 bc	0.0047 b	0.0357 c
0 mL	120	0.1193 bc	<LD	0.0365 a	0.0010 a	0.0020 ab	0.0035 ab
	180	0.0065 a	<LD	0.0402 a	0.0010 a	0.0034 ab	0.0038 ab
	60	0.1345 bc	<LD	0.0228 a	0.0255 b	0.0040 ab	0.0268 abc
2 mL	120	0.1070 bc	<LD	0.0405 a	0.0008 a	0.0017 a	0.0036 ab
	180	0.0086 a	<LD	0.0390 a	0.0011 a	0.0033 ab	0.0031 ab
	60	0.1341 bc	<LD	0.0151 a	0.0313 a	0.0040 ab	0.0172 abc
4 mL	120	0.0904 b	<LD	0.0257 a	0.0008 a	0.0025 ab	0.0034 ab
	180	0.0086 a	<LD	0.0406 a	0.0010 a	0.0031 ab	0.0039 ab
	60	0.1429 c	<LD	0.0223 a	0.0294 bc	0.0040 ab	0.0334 bc
	120	0.0951 b	<LD	0.0353 a	0.0007 a	0.0022 ab	0.0036 ab
6 mL	180	<LD	<LD	0.0482 a	0.0009 a	0.0028 ab	0.0041 ab

NOM-147: NORMA OFICIAL NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos agrícolas contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. AF: cantidad en mL de SH; DPA: días posteriores a la aplicación de SH; <LD: menor al límite de detección; MI: muestra inicial de suelo; MC: muestra compuesta de suelo, generada por las porciones de suelo adheridas a las raíces de cada planta muestreada. Medias con letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$)

El Zn en el suelo se puede presentar de diferentes formas: como iones libres (Zn^{2+} y $ZnOH$) y complejoado orgánicamente en la solución, retenido por adsorción, partículas de arcilla, compuestos de Fe, hidróxidos de Al y sustancias húmicas o como complejos insolubles (Kiekens, 1995) y normalmente se presenta en el estado de oxidación Zn^{+2} y puede formar complejos con aniones, aminoácidos y ácidos orgánicos en el suelo. La movilidad y disponibilidad del Zn en el suelo está controlada por su comportamiento de adsorción

(McBride, 1989), la cual está relacionada con los aluminosilicatos de arcilla, óxidos metálicos y carbonatos (Kalbasi *et al.*, 1978; Brümmer *et al.*, 1983). Los aluminosilicatos de arcilla afectan esta adsorción principalmente por sus efectos sobre la CIC, a mayor contenido de arcillas, mayor CIC y mayor retención de Zn en el suelo (McBride, 1989). Es fácilmente adsorbido por carbonatos, óxidos hidratados y óxidos de Fe y Mn (Tessier *et al.*, 1980; Kuo *et al.*, 1983; Hickey y Kittrick, 1984). Adicionalmente, los iones de Zn también son fuertemente adsorbidos por las partículas de materia orgánica (Krauskopf, 1972) y su contenido puede influir al formar complejos solubles e insolubles de Zn-sustancias húmicas (Elliot *et al.*, 1986; Catlett *et al.*, 2002). Probablemente los bajos valores reportados de CIC, proporción de arcillas y materia orgánica en la Tabla 2 influyeron directamente sobre la baja concentración de Zn en las muestras de suelo. Sin embargo, estos factores son condicionados por el pH debido a que influye sobre las características físicoquímicas del suelo y es uno de los principales factores que influye sobre la sorción de Zn. Las interacciones entre los óxidos de Al, Fe y Zn a través de la formación de enlaces covalentes con las superficies acuosas y grupos hidróxidos es el mayor mecanismo de retención de Zn en suelos ácidos (Kalbasi *et al.*, 1978; McBride, 1989). Al respecto, cuando el pH del suelo incrementa el número total de sitios negativos de minerales de arcilla y materia orgánica y por lo tanto incrementa la capacidad de adsorción del Zn (Harter, 1983; McBride, 1989). En la Tabla 2 se muestra que inicialmente los valores de pH fueron de 7.0 y posteriormente se presentaron valores de hasta 8.0 con una disminución en las concentraciones de Zn en las muestras de suelo. Este incremento pudo haber influido sobre la baja concentración de Zn en las muestras de suelo ya que se ha reportado que cuando incrementa el pH del suelo de 4.8 a 7.1 disminuye el Zn intercambiable de un 42% a 2% al parecer por un aumento en óxidos de Zn inorgánicamente complejados (Sims y Kline, 1991). En cambio, a pH alcalinos, como los valores encontrados en las muestras de suelo estudiadas, se pueden formar carbonatos y complejos de hidróxidos los cuales controlan la solubilidad, debido a la adsorción de Zn por los CaCO_3 y la precipitación de hidróxidos de Zn o hidroxicarbonatos de Zn son los mecanismos que controlan la solubilidad en suelos alcalinos (Papadopoulus y Rowell, 1989). Sin embargo, la deficiencia de Zn en el suelo, también se atribuye en suelos que presentan valores encima de pH 7.4, alto contenido de carbonatos de

Ca, remoción por cultivos agrícolas, textura arenosa y bajo contenido de materia orgánica (Arunachalam *et al.*, 2013). El suelo de la zona de estudio ha sido empleado para la siembra de cultivos que también podría influir sobre la reducción de Zn en el suelo. En este sentido, la aplicación de fertilizantes como fuente de nitrógeno, fósforo y potasio son prácticas comunes en estos suelos y en cuanto a la disponibilidad de Zn en el suelo también se ha reportado que la aplicación de fertilizantes fosfatados puede reducir su movilidad (McGowen *et al.*, 2001).

El éxito de la aplicación de quelantes al suelo depende en reducir la biodisponibilidad de los contaminantes (Fawzy, 2008; Battaglia *et al.*, 2007). La finalidad de la aplicación de ácidos fúlvicos fue para aumentar la disponibilidad de los metales pesados presentes en el suelo debido a que la solubilidad del complejo Zn-ácidos orgánicos puede incrementar su movilidad en los suelos. Sin embargo, la complejación Zn-ácidos orgánicos puede reducir considerablemente su adsorción sobre las superficies minerales del suelo (Scharpenseel *et al.*, 1983). Barrow (1993) reportó un trabajo donde demostró que los ligandos orgánicos reducen las cantidades de Zn adsorbido sobre un suelo Oxisol y que el efecto fue mayor con ligandos de ácidos húmicos, que complejan el Zn más fuertemente. En este estudio la adición de ácidos fúlvicos no aumentó la concentración de Zn en las muestras de suelo (Tabla 4), debido a que no se presentaron diferencias significativas entre las muestras testigo y las muestras sometidas a los AF.

El Pb y el Mn se comportaron de manera similar, para el Mn, aun cuando no se muestran diferencias significativas entre las concentraciones y los periodos, se muestra una ligera tendencia a un incremento de la concentración a los 180 d en todos los tratamientos, el Pb por su parte si presenta diferencias significativas pero no hay una tendencia clara sobre el efecto de las SH en la concentración de éste metal (Tabla 4). El Pb se presenta más comúnmente en un estado de oxidación de 0 y +II, en donde el Pb^{2+} es el estado de oxidación más reactivo (Smith *et al.*, 1995). Una vez incorporado a la matriz del suelo, es muy difícil removerlo porque es altamente inmóvil (USEPA, 1986). En este sentido, (McGrath, 1984; Davies *et al.*, 1988; Davies, 1995) concluyeron que el Pb se caracteriza por permanecer en formas insolubles en las capas superficiales del suelo. Aunque las

especies de Pb pueden variar considerablemente dependiendo el tipo de suelo se puede concluir que, a partir de los resultados obtenidos por Schnitzer y Kerndorff (1981), Kabata-Pendias y Pendias (1992) y Nolan *et al.* (2003), este metal se encuentra asociado principalmente con los minerales de arcilla, óxidos de Fe-Mn e hidróxidos de Fe-Al. Su distribución en las fases sólidas del suelo depende básicamente del pH, CIC y materia orgánica. Esta última es el factor de mayor influencia sobre la fase sólida en el proceso de adsorción de este elemento (Howard y Sova, 1993) debido a que presenta una alta tendencia a formar complejos con la materia orgánica que con ácidos orgánicos (Sauvé *et al.*, 2003).

La concentración de Pb en el suelo de estudio, posiblemente haya sido baja debido a la reducida proporción de arcilla, la CIC y la materia orgánica presentes en las muestras. Otro factor muy importante al que se atribuye este comportamiento del Pb en el suelo es el pH; debido a que en valores altos de pH el Pb puede precipitar como hidróxidos, carbonatos y fosfatos (McBride, 1994), formar con el azufre sulfato de Pb un complejo insoluble o formar sulfito de Pb, un complejo ligeramente soluble (Sharma y Dubey, 2005). Estos valores de pH pueden aumentar la capacidad del suelo para la adsorción de Pb y disminuir su disponibilidad (Moraghan y Mascani, 1991; Morel, 1997). De lo contrario, a bajos valores de pH, este elemento se solubiliza gradualmente (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Bertí y Scott, 1997; Lofts *et al.*, 2005). El pH que de las muestras de estudio presentó tendencia a la alcalinidad conforme aumentaron las aplicaciones de las sustancias húmicas, lo que podría suponer la disminución de su solubilidad o que se precipitara en forma de complejos insolubles como los anteriormente mencionados. En las muestras también se adicionaron ácidos fúlvicos con el objetivo de aumentar la disponibilidad de Pb en el suelo, de acuerdo con McCarty (2001). Las sustancias húmicas pueden inmovilizar metales pesados y su baja disponibilidad de Pb se podría atribuir en gran medida a la baja solubilidad que presenta una alta tendencia a formar complejos con la materia orgánica que con ácidos orgánicos (Sauvé *et al.*, 2003) y a la formación de complejos con ligandos orgánicos como los ácidos húmicos y fúlvicos, EDTA, aminoácidos, etc., e inorgánicos como Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , entre otros, debido a que puede movilizarse y lixiviarse a través del perfil del suelo (Bodek *et al.*, 1988). Tales interacciones pueden reducir la

concentración de Pb en las muestras de suelo. No obstante, cabe mencionar que meses antes de la aplicación de las sustancias húmicas se presentaron intensas lluvias e inundaciones que pudieron haber contribuido a lixiviar el suelo superficial de materia orgánica y cantidades muy importantes de este elemento. Dowdy y Volk (1983) y Hardison *et al.*, (2004) mencionan que suelos con bajo contenidos de arcilla, bajos contenidos de materia orgánica y sujetos a fuertes lluvias son un escenario favorable para la movilidad de los metales pesados (Dowdy y Volk, 1983; Hardison *et al.*, 2004). Sin embargo, en esta investigación esto no ocurrió.

El comportamiento biogeoquímico del Mn en los suelos es complejo. Se presenta en varios estados de oxidación (0, II, III, IV, VI y VII) y en los sistemas biológicos predominan los estados Mn^{II} , Mn^{III} y Mn^{IV} . En la solución del suelo se presenta como Mn^{II} y en la fase sólida se presenta como Mn^{III} y Mn^{IV} (Michalik, 2005). Sin embargo, su estado de oxidación depende del pH y el potencial redox. El pH influye sobre la biodisponibilidad de Mn en condiciones neutras y alcalinas (Marschner, 1995; Porter *et al.*, 2004) y las reacciones redox debido al intercambio aniónico y catiónico que condicionan la movilidad de este elemento bajo condiciones de pH ácido (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Numéricamente, en este estudio, la menor concentración de Mn se presentó a los 60 y 120 días, pero a los 180 días se cuantificó la mayor cantidad de este metal. Sin embargo, los valores de pH en el último periodo fueron alcalinos. Este comportamiento contradice lo establecido por varios autores, quienes mencionan que bajo condiciones de pH alcalino (aproximadamente 8.0) se inhibe la biodisponibilidad del Mn. Esto ocurre debido a que aumenta la adsorción del Mn en las partículas del suelo. A valores de pH neutros por encima de 6.5 se presenta una deficiencia por la competencia con otros cationes. Y, a valores de pH ácidos su solubilidad incrementa (Gherardi y Rengel, 2004; Ducic y Polle, 2005; Humpries *et al.*, 2007). Además, se ha reportado que la cantidad total en el suelo puede disminuir hasta 100 veces por cada aumento en las unidades de pH (como por ejemplo, de 5.0 a 6.0), generando una deficiencia por valores alcalinos de pH (Krauskopf, 1972). No se presentaron aumentos significativos en la concentración de Mn al aplicar sustancias húmicas al suelo y la concentración fue relativamente baja. Probablemente, los valores bajos en el suelo se deban a que a la textura franco-limosa disminuyó el contenido

de Mn (Hue y Mai, 2002), a que la actividad de los microorganismos del suelo afectaron su presencia, ya que oxidan el Mn^{3+} a formas menos disponibles y, a una posible sustitución del ión Mn por iones de Fe (Krauskopf, 1972) o al poco contenido de material orgánico (Hue, 1988; El-Jaoual y Cox, 1998).

5.5. Efecto de la aplicación de sustancia húmicas en la bioacumulación de metales pesados en las plantas de higuera

5.5.1. Aluminio

La bioacumulación de Al en los diferentes tejidos de la planta muestra diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos de SH aplicados y altamente significativa en los diferentes órganos en la planta. La mejor concentración de SH fue la de 2 mL, seguida de las de 4 y 6 mL. Para las hojas de la planta en estudio la concentración de 4 mL fue la que favoreció el proceso de acumulación de Al (Figura 10).

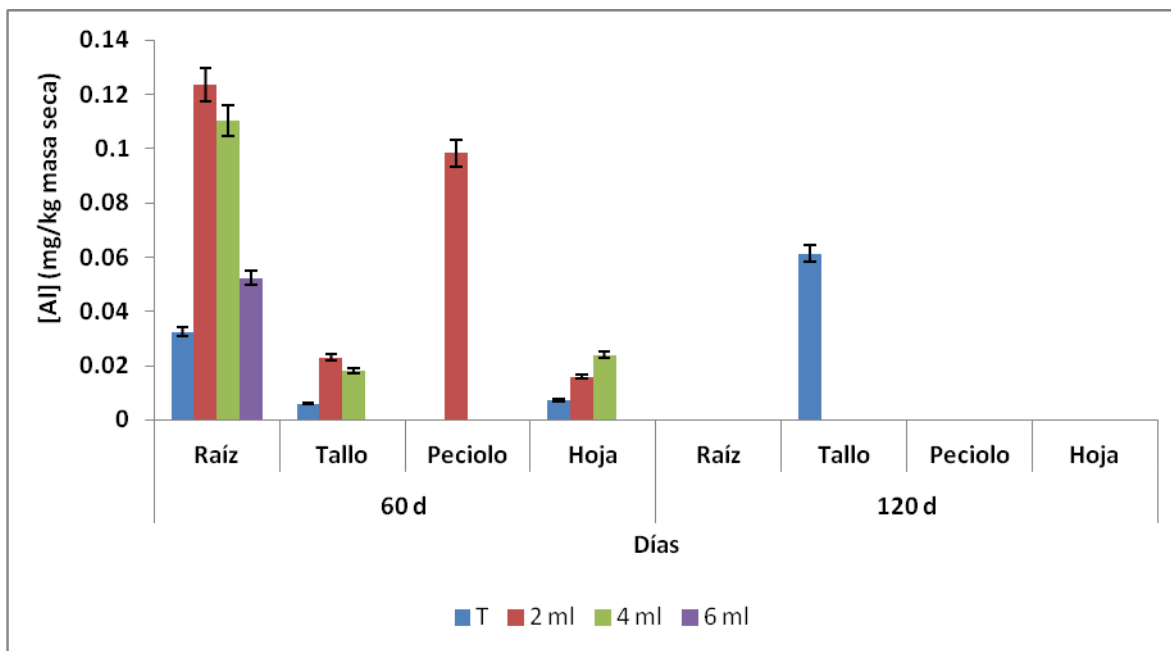


Figura 10. Concentración de Al en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL)

Rueter *et al.* (1987) reporta que las sustancias húmicas pueden asociarse con Al y reducir sus efectos tóxicos. Adicionalmente, DeFilippis y Pallaghy (1994) sugieren que la bioacumulación de un metal depende de su nivel iónico en el sustrato. Probablemente el nivel iónico del Al haya sido reducido por su asociación con las sustancias húmicas, limitando su absorción por la planta. Sin embargo, Hue *et al.* (1986) sugiere que la capacidad de desintoxicación por agentes quelantes orgánicos, tales como las sustancias húmicas, están relacionados a las relativas posiciones de los grupos OH/COOH en la cadena principal de carbono. Es importante notar que sólo la aplicación de 2 mL permitió que el Al se acumulara en los cuatro órganos estudiados en el siguiente orden: raíz>pecíolo>tallo>hoja y la cantidad acumulada de Al también fue la mayor que con las dosis de SH restantes. Esto coincide con lo reportado por Casierra-Posada y Cárdenas-Hernández (2007) quienes encontraron mayor concentración de Al en raíces que en los tejidos aéreos.

Es importante resaltar que el Al sólo se determinó favorablemente en el primer periodo (60 días), para los dos restantes los valores del metal se encontraron por debajo de límite de detección (<LD). Este comportamiento puede deberse a que los valores de pH del suelo del segundo y tercer periodo presentaron tendencia a la alcalinidad y la absorción de Al por las plantas es mayor cuando el suelo presenta un pH ácido debido a que este elemento se precipita como Al (OH)₃, una forma insoluble e indisponible para las plantas (Cumming y Weinstein, 1990; Casierra-Posada y Cárdenas-Hernández, 2007). El Al además, presenta antagonismo con el Ca, Mg, P y K debido a que interfiere con la absorción, transporte y utilización de estos elementos (Rao *et al.*, 1998; Casierra-Posada y Cárdenas-Hernández, 2007), altera la homeostasis del calcio, interactúa con iones de fósforo y grupos fosfatos y reduce la disponibilidad de estos elementos para las plantas (Peixoto, 1999, Hamilton, 2001). Sin embargo, la concentración de Al en plantas varía en función a la especie, tolerancia, concentración de este metal en el sustrato, condiciones de crecimiento y tiempo de exposición (Vig *et al.*, 2003; Kochian *et al.* 2004).

5.5.2. Cromo y manganeso

La Figura 11 muestra los datos experimentales obtenidos. El análisis estadístico mostró interacción significativa para el Cr y el Mn. En el primer caso la interacción fue entre el tipo de órgano y las diferentes dosis de SH ($P = 0.0001$); por otro lado, el Mn presentó dos interacciones dobles altamente significativas, una entre periodo de muestreo y órganos de la planta ($P = 0.0001$) y la otra entre las dosis de SH y órganos de la planta ($P = 0.0001$). Los resultados indican que la concentración de estos elementos está relacionada con el órgano de la planta y la cantidad de SH aplicadas al suelo y el periodo de evaluación. Cabe resaltar que las tres concentraciones de SH favorecieron la acumulación de Cr en todos los órganos. Sin embargo la mayor concentración se obtuvo en la hoja de la planta testigo.

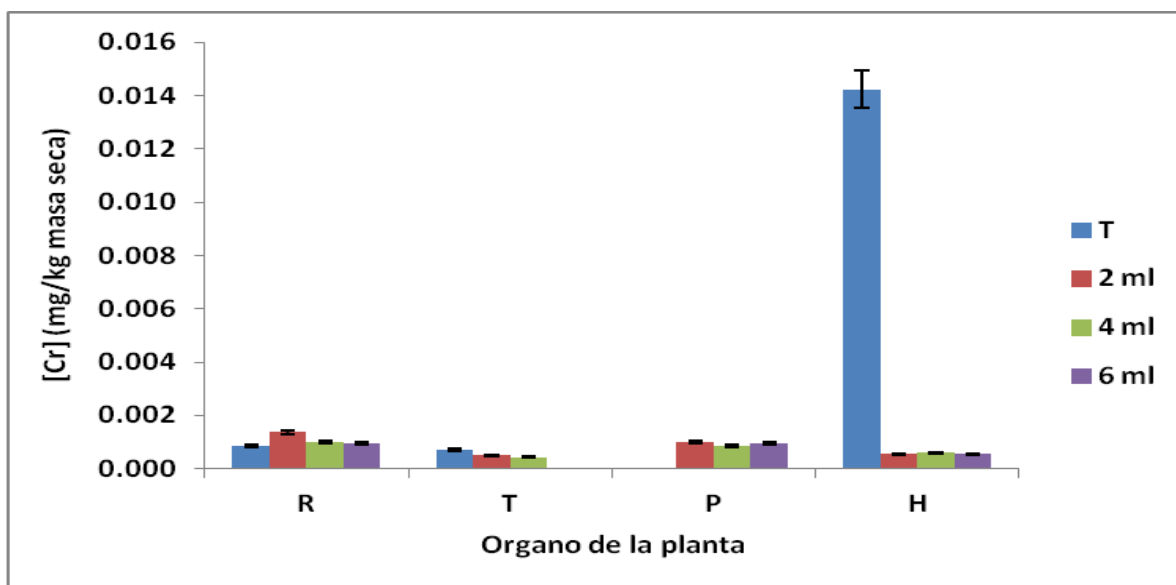


Figura 11. Concentración de Cr en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL).

En el presente estudio, los valores determinados de Cr en hoja son similares a los reportados en otras investigaciones, en *Brassica juncea* L. (Bolan *et al.*, 2003), *Zea mays* L. (Mortvedt y Giordano, 1975), en *Glicine max* L. Merr. (Turner y Rust, 1971) y *Pisum sativum* L. (Bishnoi *et al.*, 1993). Este comportamiento tal vez se relacione a que el Cr tiene

afinidad al ión Mg presente en la molécula de clorofila. En su forma hexavalente el Cr puede reemplazar iones de Mg en algunas enzimas y reducir el contenido de clorofila (Vajpayee *et al.*, 2000). Del estudio, sólo pudieron determinarse las concentraciones de este elemento durante el primer periodo (60d). Para los periodos restantes los valores fueron menores al límite de detección (<LD). Esto se puede atribuir a que la biodisponibilidad de Cr en el suelo es reducida (Losi *et al.*, 1994) y, aunque se han reportado mecanismos de movilidad de este metal en la rizósfera, los estudios aún no están completamente definidos. Sin embargo, la función de los ácidos orgánicos de la raíz influyen en la solubilidad del Cr en el suelo (Rauser, 1999) y pueden reducir su disponibilidad en el suelo.

Es importante considerar que también los exudados radicales son otra fuente importante para la quelación de este metal (Hale y Griffin, 1974; Caltado *et al.*, 1988), ya que generan ácidos orgánicos que pueden complejar al Cr y volverlo disponible para las plantas (Bartlett y James, 1988). Srivastava *et al.* (1999) evaluaron el efecto de los ácidos orgánicos sobre la toxicidad del Cr en *Lycopersicon esculentum* comprobando que bajo la presencia de ácidos orgánicos como aminoácidos y ácidos carboxílicos se mejora la absorción de Cr. Los ácidos orgánicos modifican las propiedades del suelo, incrementan la disponibilidad, movilizan y facilitan la absorción de Cr por las raíces (Wu *et al.*, 2003). En este sentido, las SH funcionan como complejos orgánicos que estructuralmente presentan en mayor cantidad grupos carboxilos e hidroxilos los cuales pueden quelar metales en plantas y suelo (Ehrlich, 2002) pero en un rango de pH de neutro a alcalino, el Cr^{III} se vuelve insoluble y poco móvil (Kozuh *et al.*, 2000; Adriano, 2001).

En la presente investigación, la adición de SH aumentó la absorción y translocación del Cr sólo durante los primeros 60d (Figura 11). Se ha observado que al aplicar agentes quelantes como el EDTA, se incrementa también la absorción y translocación de Cr del suelo hacia las plantas (Athalye *et al.*, 1995). Otro ejemplo lo reportaron Shahandeh y Hossner (2000) quienes, al aplicar EDTA y Cr a razón de 1:1 en *Brassica juncea* L., incrementaron la concentración de Cr hasta 50 veces más en comparación a plantas sin aplicación de EDTA.

En el caso del Mn (Figura 12), el órgano donde se presentó mayor biacumulación fue en las hojas durante los tres periodos de muestreo. A los 60 días, con la aplicación de las SH, tanto la raíz como las hojas fueron los órganos en donde se concentró más el metal. En la raíz, la concentración de 2 mL, fue la que favoreció la acumulación, seguida de las otras dos concentraciones en orden decreciente. En el caso de la hoja, el comportamiento fue al contrario; sin embargo, en ambos órganos la acumulación del metal en interacción con las SH superó a lo reportado en la muestra testigo.

A los 120 y 180 d, a excepción de la hoja, la biacumulación de Mn fue muy similar en el resto de los tejidos; en el caso de las hojas las concentraciones de 2 y 4 mL de SH promovieron una mayor concentración del metal.

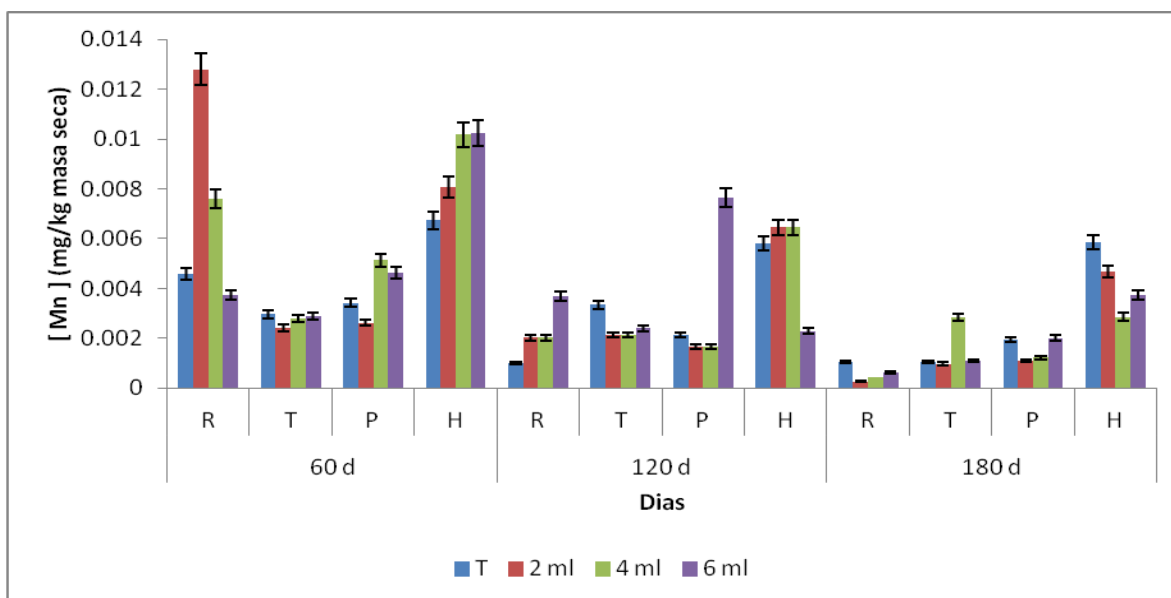


Figura 12. Concentración de Mn en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL)

Este comportamiento de absorción se puede deber a que inicialmente el pH del suelo tenía valores neutros y en los muestreos posteriores, los valores de pH presentaron tendencia a la alcalinidad. A pH ácido, las cantidades de manganeso intercambiable principalmente la forma Mn^{2+} aumenta en la solución del suelo. Esta forma de Mn es la disponible para las

plantas y puede ser biodisponible por las células radiculares y ser transportado a los tallos dónde es finalmente acumulado (Guo y Marschner, 1995).

Adicionalmente, los iones de Mn^{2+} en su mayoría están inmóviles en el suelo y factores, como longitud y fisionomía radicular, tienen una gran influencia sobre su disponibilidad para las plantas (Gahoonia *et al.*, 1997; Gherardi y Rengel, 2004). El máximo valor, cuantificado en raíz (0.013 mg/kg masa seca), es menor a lo reportado para plantas acumuladoras, cuyos valores van de 10.34 mg/kg de Mn en raíces de *Cucurbita pepo* L., hasta 42.34 mg/kg en raíces de *Zea mays* L. (Poniedzialek *et al.*, 2005).

Una explicación sobre la mayor concentración de Mn en la raíz, podría ser que la inmovilización de los elementos de la raíz a los tallos en algunas especies pueden desarrollar una barrera como mecanismo de defensa, disminuyendo el potencial de fitoextracción, absorbiendo solo una parte de los iones asociados a las raíces (Lasat, 2000).

La mayoría de los estudios sobre la fitoextracción de Mn en plantas se han centrado en especies arbustivas (Poniedzialek *et al.*, 2005; Fernando *et al.*, 2006; Reimann *et al.*, 2007). Posteriormente, Ascher *et al.* (2009) reportaron concentraciones de Mn en hojas de *Lactuca sativa* a tales niveles que fue posible reducir considerablemente las concentraciones de Mn en un suelo contaminado. En otra investigación, Ondo *et al.* (2014) cuantificaron en cultivos de *Manihot esculenta*, *Amaranthus* spp. y *Rumex acetosa* niveles más elevados de Mn que los niveles reportados como tóxicos por plantas propuestos por Kabata-Pendias y Mukherjee (2007). En esta última investigación se cuantificaron niveles >1000 mg/kg de Mn. En el presente estudio el valor de Mn más alto se cuantificó en hoja (0.011 mg/g) y está muy por debajo de los reportados en otras investigaciones.

Los resultados obtenidos sobre la concentración de Mn en plantas de *Ricinus communis* L. en esta investigación muestran que esta planta no presenta el comportamiento de absorción de metales pesados de una planta acumuladora o hiperacumuladora. Esto no necesariamente responde a la especie en sí, ya que en un estudio llevado a cabo en esta especie, se reportaron concentraciones entre 275-900 mg/kg de Mn en hojas de plantas de *Ricinus communis* L. sembradas en un suelo contaminado (Vwioko *et al.*, 2006). Posiblemente la reducida acumulación presentada aquí puede atribuirse a los bajos niveles

de Mn cuantificados en el suelo de la zona de estudio y, aunado a esto, al inicio de la investigación hubo una inundación que probablemente pudo haber lixiviado grandes cantidades de este metal. Una forma de determinar la capacidad de bioacumulación de Mn de esta especie sería bajo condiciones hidropónicas.

5.5.3. Níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn)

Con respecto a los tres elementos restantes (Ni, Pb y Zn) el análisis estadístico de los datos experimentales (Figura 13) mostró diferencias estadísticas altamente significativas entre los diferentes periodos de evaluación.

El Ni a los 60 días registró la mayor bioacumulación en los diferentes órganos de la planta, en los dos periodos restantes, la bioacumulación se vio muy disminuida en comparación con el primer periodo y en varios casos la cantidad del metal estuvo por debajo del límite de detección.

Los resultados muestran que para el primer periodo, las diferentes dosis de SH, en comparación con el testigo, favorecieron la bioacumulación del Ni en los cuatro órganos evaluados, principalmente en la raíz siendo la de 2 mL la que tuvo mayor efecto en este órgano. Para los tallos, peciolo y hojas la dosis con la que se presentó la mayor concentración de Ni fue con la de 6 mL. En los siguientes periodos de evaluación (120 y 180 d) se observa 2 mL de SH, favorecen la bioacumulación de Ni en todos los órganos, sin embargo es importante observar que la bioacumulación de éste metal es 10% menos que lo observado a los 60 d (Figura 13).

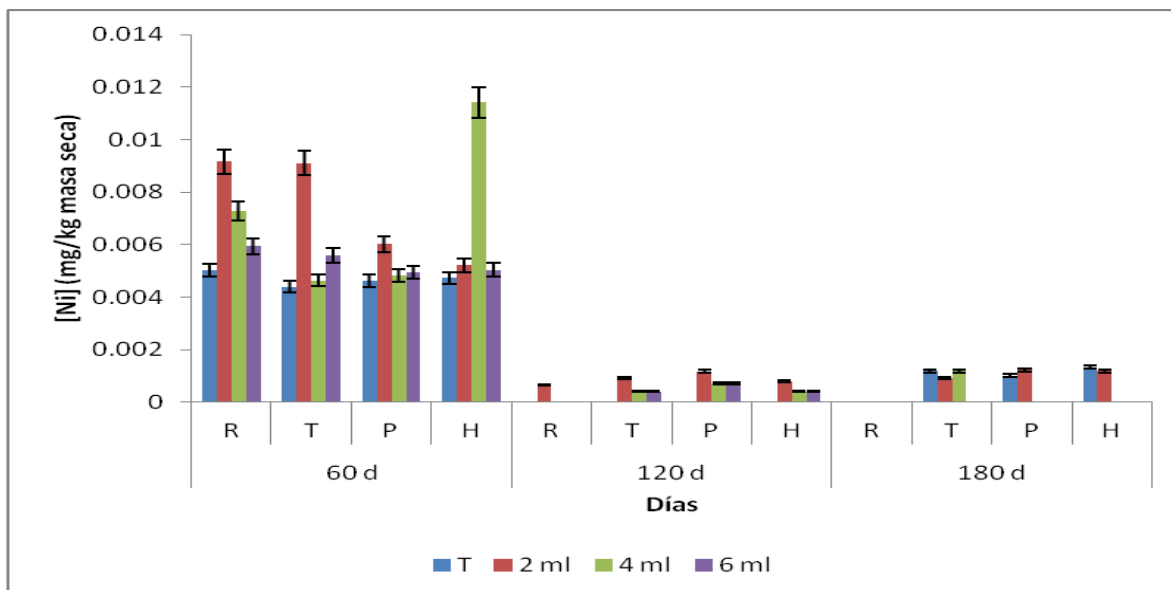


Figura 13. Concentración de Ni en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL)

Se ha demostrado que la especie *R. communis* L. es tolerante e hiperacumuladora de Ni (Giordani y Cecchi., 2005; Malarkodi *et al.*, 2008). Esto se ve favorecido debido a que produce una considerable cantidad de biomasa en raíz, tallo y hoja. Estudios anteriores permiten establecer que el Ni se acumula en mayor cantidad en raíces que en partes aéreas (Soltan y Rashed 2003; Lu *et al.*, 2004). Sin embargo, se ha demostrado que las especies vegetales muestran diferente potencial de absorción de Ni aún bajo las mismas condiciones ambientales (Guo y Marschner, 1995). Adicionalmente, la aplicación de SH al suelo aumentó la bioacumulación de Ni para la mayoría de los órganos vegetales, sugiriendo así que las SH favorecen la biodisponibilidad del Ni y una considerable translocación dentro de la planta. No obstante, la cuantificación de este metal en los órganos vegetales fue baja. Una explicación a este comportamiento puede deberse a una exclusión de este elemento por cambios de pH o a los bajos niveles de Ni en el suelo agrícola estudiado. Tales exclusiones de metales pesados en tejidos radicales han sido sugeridas como una estrategia de adaptación a la tolerancia metálica por diferentes plantas (Taylor y Crowder, 1983a, b). Bowen (1979) reporta que las concentraciones de Ni en tejidos vegetales no exceden el rango de 0.02-0.05 mg/kg masa seca, valores que están por encima de los obtenidos en el

presente estudio. La mayor concentración de Ni en esta investigación, se presentó en hoja del primer periodo.

Es importante considerar que la absorción y acumulación de Ni se incrementa con el aumento de pH del suelo (Li *et al.*, 2003) y que su movilidad en las plantas depende de la especie vegetal, su movilidad dentro de la planta (Tiffin, 1971; Thiesen y Blincoe, 1988) y el antagonismo con otros elementos (Sajwan, *et al.*, 1996).

Los iones de Ca disminuyen la absorción y translocación de Ni de las raíces hacia el tallo, pero su contenido en plantas también varía con base en los contenidos de Fe, Cu, Co, Mg, Mn, K, Na y Zn (Barcelo y Poschenrieder, 2004; Sharma y Dhiman, 2013). Pandey (2013) cuantificó Ni, en raíz, tallo y hoja de plantas de *Ricinus communis* L. establecidas en un suelo contaminado y en otro no contaminado, encontrando una mayor bioacumulación de estos metales en planta provenientes de suelos contaminados. Con los estudios anteriores y aunque en la presente investigación se presentó una baja cuantificación de Ni en los diferentes órganos vegetales, se puede considerar a *R. communis* L. como una especie con potencial para la remoción de Ni en suelos con presencia de este elemento en interacción con la adición de SH.

Con respecto al comportamiento del Pb, se observa que la mayor bioacumulación de éste metal se potencializó en el segundo y tercer periodo de evaluación (120 y 180 días), siendo en este último en donde se evidencia la mayor acumulación. En general, los resultados muestran que las aplicaciones de SH favorecen el proceso de bioacumulación del Pb en los diferentes órganos de la planta en comparación con el testigo. El análisis estadístico muestra que existen diferencias significativas en la cantidad de Pb en los diferentes órganos de la planta con las diferentes concentraciones de SH, además de la encontrada en los diferentes periodos de evaluación (Figura 14).

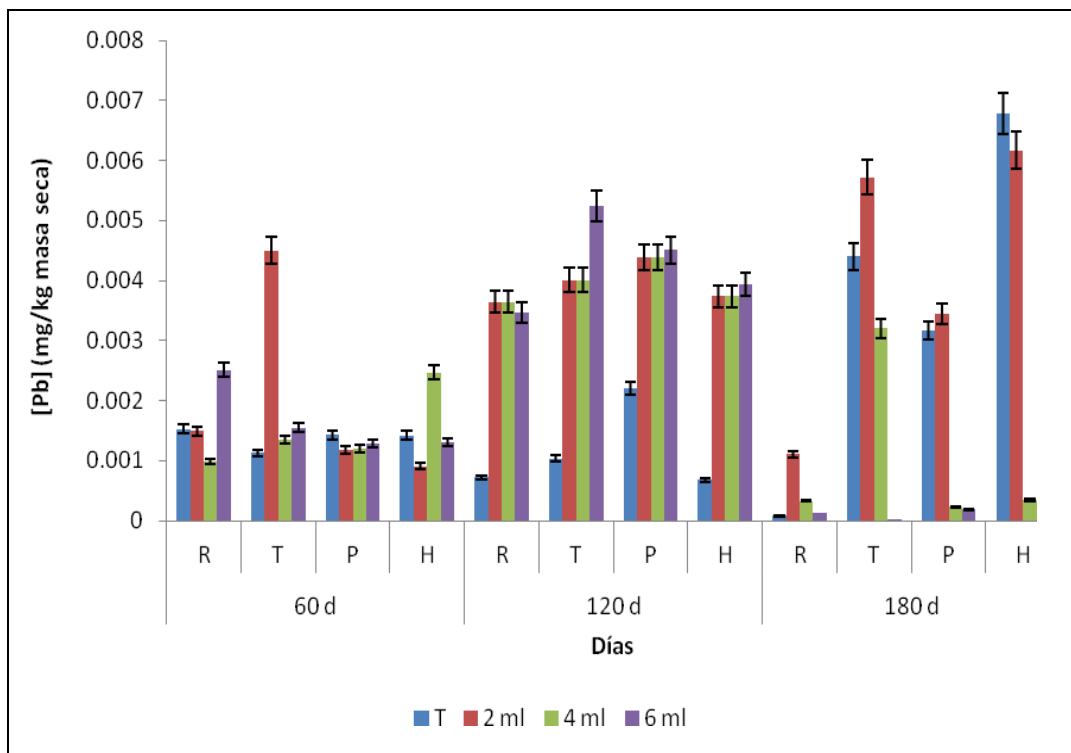


Figura 14. Concentración de Pb en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL)

El uso de agentes quelantes que incrementan la absorción de metales por las plantas y, al mismo tiempo, son eficientes en promover la translocación del Pb en la planta puede ser una ventaja para la fitoextracción de este elemento (Epstein *et al.*, 1999). En otros estudios, se ha reportado la afinidad de las SH con Pb (Sadi *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2007) y a *R. communis* L. como una planta hiperacumuladora de Pb (Romeiro *et al.*, 2006). Los valores reportados en este estudio tienen comparación a los reportados por Vwioko *et al.*, (2006) quienes cuantificaron Pb en raíz, tallo, hoja de *R. communis* L., a los realizados por Figueroa *et al.*, (2008) ellos detectaron 0.0027, 0.0017 y 0.0002 mg/g de Pb respectivamente en raíces de *R. communis* colectadas de tres diferentes sitios de muestreo de suelo con presencia de SH y concluyen que la presencia de sustancias húmicas en el suelo inhibe la absorción de los metales pesados por las plantas de esta especie.

Sin embargo, Pichtel *et al.* (2000), mencionan que el Pb de suelos contaminados es tomado en cantidades graduales y mínimas por especies herbáceas y leñosas. Uno de los órganos vegetales clave para la absorción de metales pesados son las raíces. Las raíces son capaces de acumular significativamente este metal y simultáneamente restringir su translocación hacia los tallos (Lane y Martin, 1977), pero aún en bajas concentraciones, el Pb puede moverse a través del tejido radical, principalmente vía apoplasto y a través de la corteza donde es acumulado cercano a la endodermis, ésta actúa como una barrera parcial para la translocación del Pb hacia los tallos y puede ser una de las razones de una mayor acumulación del Pb en raíces que en tallos (Jones *et al.*, 1973; Verma y Dubey, 2003). Esto sugiere que la adición de las SH promovieron una mayor acumulación de Pb en los tejidos aéreos, ya que la mayoría de las concentraciones cuantificadas en los órganos vegetales, indican una movilidad de las raíces a los órganos aéreos, debido a que generalmente, el patrón de concentración para este metal fue tallo > hoja > peciolo > raíz.

Diferentes estudios han reportado a esta especie como una especie no acumuladora de metales pesados (Ruiz Olivares *et al.*, 2013); sin embargo, Romeiro *et al.* (2006) concluyen que esta planta es hiperacumuladora de Pb bajo condiciones de hidroponía debido a que se cuantificaron concentraciones de este metal de 600 y 25 000 mg/kg en partes aéreas y radicales. En el presente estudio, las concentraciones de Pb en las plantas de *R. communis* L. fueron menos de 0.5 mg/kg para las plantas sin aplicación y con aplicación de SH, lo cual muestra que no hubo fitoacumulación. Estos resultados pueden ser explicados por los relativamente bajos contenidos disponibles en el suelo estudiado (Tabla 4), contenido de materia orgánica (Paulo *et al.*, 1989), pH, CIC del suelo, exudación radical y parámetros fisicoquímicos del suelo (Lasat, 2002).

Finalmente para el Zn el análisis también muestra diferencias significativas entre los periodos de evaluación (Figura 15). Aquí, al igual que el Ni, el primer periodo es donde se potencializa la bioacumulación de Zn. El Zn es considerado un elemento esencial para todas las plantas. Las plantas predominantemente absorben Zn como cation divalente, el cual actúa como un componente metálico, cofactor estructural o regulador enzimático de *R. communis* L. Esta especie ha sido considerada como una planta tolerante (Prasad, 2001) e

hiperacumuladora de Zn cuando presentan en sus tejidos cantidades >10 000 mg/kg (Kakar *et al.*, 2011) y la concentración de metales pesados es de 10-500 veces más que en plantas de ambientes no contaminados (100 mg/kg Zn) (Shen y Liu, 1998). Los niveles cuantificados en el presente estudio muestran bajos niveles de Zn.

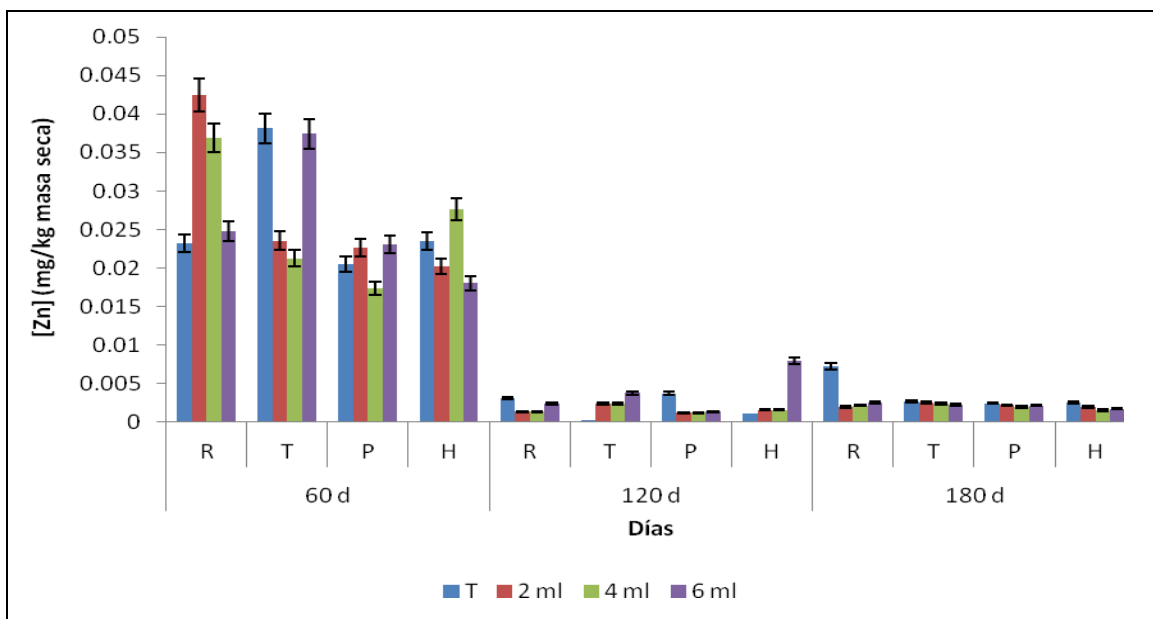


Figura 15. Concentración de Zn en los diferentes órganos de la planta (R: raíz, T: tallo, P: peciolo, H: hoja) a los 60 d de aplicadas las diferentes concentraciones de SH (0, 2, 4, 6 mL)

La mayoría de los materiales orgánicos aumentan la adsorción de Zn (Shuman, 1999) y la adición de 2 mL de SH mostró la mayor acumulación de Zn en raíz en comparación a las plantas testigo y las diferencias en la acumulación de metales en los diferentes órganos vegetales sugieren diferentes mecanismos celulares de bioacumulación de metales que podrían regular su translocación (Sinha *et al.*, 2007).

La disponibilidad de este elemento está fuertemente influenciada por la complejación de ácidos húmicos y fúlvicos, los cuales tienen efecto sobre las condiciones físicas y químicas del suelo y pueden ser responsables de la mitigación de un suelo contaminado (Kumpiene *et al.*, 2008).

Se ha reportado que el potencial de fitoextracción de Ni, Pb y Zn en *Ricinus communis* L. se ve favorecido al adicionar al suelo DTPA (Gupta y Sinha, 2007; Vwioko *et al.*, 2006; Ananthi *et al.*, 2012). En un trabajo en donde se sometieron plantas de higuera inoculadas con dos cepas de *Pseudomonas* spp. en macetas con suelo que contenían 275 mg/kg Ni, pH de 5.95 y 4.3% de materia orgánica, se determinaron concentraciones de Ni y Zn en raíz, tallo y hoja en ambos tratamientos (Rajkumar y Freitas, 2008). Por otro lado, se evaluó también el papel de fitoextracción de *R. communis* L al aplicar materiales orgánicos (humus vs. sedimentos) en un suelo contaminado y los resultados muestran que no hay acumulación de Ni y Zn, pero sí muestran hiperacumulación de B aunque no sea un metal pesado (Ruiz Olivares *et al.*, 2013).

Se ha reportado la afinidad de las SH con metales pesados de la siguiente manera: $Ni^{2+} > Pb^{2+} > Cr^{3+} > Mn^{2+} > Zn^{2+}$ (Sadi *et al.*, 2002), lo que puede suponer una baja afinidad del Zn con las SH ayudando a reducir los efectos tóxicos de estos elementos. Un estudio demostró que la turba y un sustrato de carbono con alto contenido de SH favorecieron el desarrollo de la especie *Brassica juncea* L. debido a la mitigación de Zn, Cu, Pb y B del suelo por los ligandos orgánicos (Santos y Rodella, 2007). En el presente estudio, la aplicación de SH también mitigó al Zn en el suelo a los 120 y 180 d. Esto también puede ser explicado por qué la adición de SH durante el primer periodo el pH del suelo presentaba valores neutros y en los periodos posteriores su adición aumentó el pH del suelo con una tendencia a la alcalinidad, el Zn presenta deficiencia en suelos con pH alcalinos (Cakmak, 2002, 2004; Alloway, 2004).

Por otro lado, se ha demostrado que la acidificación del suelo favorece la hiperacumulación de Cd o Zn, aunque un exceso de acidez puede inducir fitotoxicidad de Al o Mn (Wang *et al.*, 2006). También el contenido de materia orgánica pudo haber influido sobre la concentración de Zn del suelo, debido a que puede afectar su biodisponibilidad (Shuman, 1975; Bar-Tal *et al.*, 1988; del Castilho *et al.*, 1993) o a los bajos contenidos de este metal presentes en el área de estudio.

5.6. Índice de Bioacumulación (IB)

Los resultados muestran que a los 60 d de la aplicación de SH, el índice de bioacumulación permanece sin cambios entre el testigo y las diferentes dosis de SH en Mn, Ni y Zn (Tabla 5). Esto sugiere una inmovilización en raíces como una estrategia de exclusión en las plantas de *R. communis* L. o a un antagonismo entre elementos debido a que el proceso de absorción de un metal puede ser afectado por la presencia de otros metales en el suelo (Blaylock y Huang, 2000). Para el Cr este índice disminuye con la aplicación de SH, la bioacumulación de aluminio se incrementa con la aplicación de 2 mL de SH, pero con 4mL disminuye (Tabla 5). Esto significa que la aplicación de SH inhibe la absorción de estos elementos del suelo hacia las raíces por los cambios de pH del suelo, debido a que es la variable que controla el balance entre las especies de Al y Cr.

Tabla 5. Índice de bioacumulación de los metales pesados en plantas de higuierilla sometidas a dosis de SH

Días	[AF] Planta	Índice de bioacumulación					
		Al	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
60	Testigo	-	7	1	1	1	3
	2	2	3	1	1	2	3
	4	1	1	1	1	2	3
	6	-	1	1	1	2	3
120	Testigo	-	-	1	-	-	-
	2	-	-	1	-	4	-
	4	-	-	1	-	4	-
	6	-	-	1	-	5	-
180	Testigo	-	-	-	-	4	-
	2	-	-	-	-	2	-
	4	-	-	-	-	1	-
	6	-	-	-	-	-	-

Se sabe que las especies tolerantes al aluminio secretan ácidos orgánicos de sus raíces en respuesta a la presencia de Al (Ma, 2000; Ryan *et al.*, 2001; Panizza-de-León *et al.*, 2011). Se han identificado los compuestos orgánicos como citrato, malato y oxalato que pueden formar complejos suficientemente fuertes con Al³⁺ para proteger las raíces y se ha reportado para varias especies vegetales (Pellet *et al.*, 1995; Ma *et al.*, 1997; Ma *et al.*,

1998; Yang *et al.*, 2001). En algunas de estas especies estudiadas, hubo un aumento en la secreción de ácidos orgánicos localizados en el ápice radicular, pero esta secreción dependía de la concentración de Al^{3+} en la solución (Delhaize *et al.*, 1993; Pellet *et al.*, 1995). Posiblemente también se presentó una exclusión de Al en el ápice radicular como mecanismo de resistencia (Kochian y Jones, 1997) y se ha demostrado que la resistencia de Al es mediado por la liberación de Al-activado por ácidos orgánicos como malato, oxalato o citrato, los cuales estabilizan al Al^{3+} en la rizosfera y previene su entrada al ápice radicular (Ma *et al.*, 2001).

Para el Cr la reducción a Cr^{6+} por la materia orgánica u otro donador de electrones es favorecido en suelo con pH <6 y su oxidación y reducción es inhibida en suelo con pH >6 (James, 1996; Bolan *et al.*, 2014). Por lo que se puede atribuir el bajo IB de Cr en los órganos de *R. communis* L. a la disponibilidad mediada por el pH del suelo.

Algunas especies vegetales, denominadas hiperacumuladoras, pueden concentrar elementos potencialmente tóxicos (EPT) en sus tejidos a niveles que exceden las concentraciones de los EPT en el suelo, se sugiere considerar estas concentraciones como un criterio para determinar si una planta es hiperacumuladora (Ali *et al.*, 2013). La concentración reportada para determinar a una planta como hiperacumulación de Al, Cr, Mn, Ni, Pb, Zn, en este estudio muestran un IB positivo (Tabla 5). De esta manera y bajo este criterio, la especie vegetal considerada en este estudio puede catalogarse como hiperacumuladora de metales pesados.

Para el Pb, el IB se incrementa con la aplicación de SH, pero no hay diferencias significativas entre las dosis de éstos. Se ha reportado que la disponibilidad de los metales pesados incrementa o disminuye bajo la presencia de quelantes orgánicos (Bolan y Duraisamy, 2003). Esto podría indicar un mecanismo de tolerancia para Pb por *R. communis* L. Además la solubilidad y su disponibilidad en el suelo para su absorción por las raíces es limitada por la complejación con la materia orgánica, sorción con óxidos y arcillas, precipitación del Pb como hidróxidos, carbonatos o fosfatos (Bride, 1994).

Los valores de IB obtenidos en este estudio superan los reportados por Miniño *et al.* (2014) quienes en plantas de *R. communis* reportaron como valores de IB de 1.03 y 0.57 al aplicar

diferentes tratamientos de EDTA y a los obtenidos por Katagiri, (2012) quien reporta un IB para el Zn de 0.129 en esta especie, pero sin la aplicación de agentes quelantes.

A los 120 d de aplicación de SH, el IB para el Mn se mantiene sin efecto por los tratamientos, sin embargo para el Ni el IB incrementa en comparación con el primer periodo, notándose que la concentración de 6 mL promueve una mayor bioacumulación en comparación con las dosis de 2 y 4 mL. Sin embargo, a los 180 d de aplicación de los tratamientos disminuye este IB, siendo el tratamiento testigo el que muestra un valor más alto que los diferentes tratamientos con SH. Esto hace pensar que las SH en las diferentes concentraciones no son los únicos factores que promueven una mayor o menor acumulación de metales en los diferentes órganos de las plantas y que la efectividad de éstos también depende del metal que se trate (Tabla 5 arriba).

El suelo estudiado no presentó contaminación por metales pesados de acuerdo a la NOM 147-SEMARNAT/SSA1-2004. Zehra *et al.* (2009) mencionan que los valores del IB son mayores en suelos contaminados que en suelos no contaminados y que el IB depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo, concentración y las formas químicas del contaminante en el suelo. Se ha propuesto que la absorción metálica y los mecanismos de bioacumulación de las plantas varían entre especies y la producción de exudados radiculares (Baker y Walker, 1990). Kabata-Pendias y Pendias (2001), reportan que los exudados radiculares tienden a acidificar el medio, lo que trae como consecuencia una disminución del pH, ocasionando que los metales sean biodisponibles. El pH del suelo es frecuentemente la propiedad química más importante que determina la sorción, precipitación, solubilidad y disponibilidad de los metales pesados (Basta *et al.*, 2005).

En general, las condiciones de pH ácido en el suelo, observadas durante los primeros 60d, aumentaron la disponibilidad de los metales pesados en las plantas. Esto puede atribuirse a que la mayoría de los metales pesados son disponibles para las raíces en medios ácidos (Basta *et al.*, 2005).

Chaney (1983) notó que algunas especies hiperacumuladoras tienen altos valores de IB, pero debido a su baja producción de biomasa, su fitoextracción es reducida, pero *R. communis* L. presenta rápido crecimiento y una alta producción de biomasa (Huang *et al.*,

2011; Bauddh y Singh, 2012a, b). De acuerdo con McGrath y Zhao (2003) para una hiperacumulación exitosa de metales pesados es necesario alcanzar valores de IB >20 y, en esta investigación, ningún valor obtenido del IB fue mayor a esta criterio. Por lo tanto, de acuerdo con el IB, en este estudio el comportamiento de absorción de metales pesados por *R. communis* L. fue el de una especie acumuladora.

5.7. Factor de Translocación (FT)

Los resultados no muestran una tendencia clara con respecto a esta variable (Tabla 6).

Tabla 6. Factor de translocación de los metales pesados en plantas de higuierilla sometidas a dosis de SH

Período	[AF] Planta	Factor de translocación					
		Al	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
60	Testigo	1	18	3	3	3	4
	2	1	1	1	2	4	2
	4	-	-	2	-	5	2
	6	-	2	5	-	2	3
120	Testigo	-	-	11	-	13	2
	2	-	-	5	-	3	3
	4	-	-	5	6	3	3
	6	-	-	3	2	4	15
180	Testigo	-	-	-	2	29	1
	2	-	-	-	4	62	3
	4	-	-	-	-	7	3
	6	-	-	-	-	-	3

Se observa que la respuesta de los metales a las diferentes concentraciones y el tiempo de aplicación de los tratamientos de SH son heterogéneos. A los 60 d, el FT para Mn, Ni, Cr y Zn es mayor en el tratamiento testigo, disminuyendo con los tratamientos de SH, a excepción del Mn el cual muestra un incremento en el FT con 6 mL de SH; el Pb por el contrario, las concentraciones de 2 y 4 mL favorecen el proceso de translocación. A los 120 días, el testigo mostró un mayor incremento en la translocación de Mn y Pb en comparación con las tres dosis de SH aplicadas, las cuales en comparación con el primer periodo incrementan la translocación de Mn; para el caso del Zn, en este periodo, sólo la dosis de 6

mL favoreció significativamente la translocación de éste metal hacia la parte aérea, las restante incluyendo el testigo, se mantuvieron sin cambio en comparación con el primer periodo. Finalmente, a los 180 d de iniciado el tratamiento, solamente el Pb muestra valores importante de translocación, siendo la dosis de 2 mL la que tuvo un incremento considerable seguida del testigo. En el Zn las tres dosis de SH mantuvieron sin cambio el FT y, en el caso de la dosis de 6 mL, que fue la mejor en el segundo periodo, para éste tuvo los mismos efectos que las dosis más bajas (Tabla 6).

El FT evalúa la eficacia de la translocación de los metales pesados de la raíz a los órganos aéreos (Tu y Ma, 2002; Zhao *et al.*, 2002; Yoon *et al.*, 2006). Cuando el valor obtenido de este índice es >1 indica que la planta tiene el potencial de transferir metales pesados de las raíces al tallo (Ma *et al.*, 2001) y si el FT obtenido es <1 refleja el comportamiento de absorción de una planta exclutora (Singh *et al.*, 2010).

La habilidad de las plantas para transferir metales de las raíces a órganos aéreos es una importante característica para determinar si una planta es fitoextractora de metales pesados. Para el Al y Ni la mayoría de los valores del FT fueron <1 lo que demuestra que en *R. communis* L. no hubo una efectiva transferencia de los metales de la raíz al tallo o a la hoja.

Con respecto al Al, varios estudios mencionan que las especies acumuladoras de este metal tienen mecanismos internos de detoxificación de Al^{3+} al formar complejos orgánicos (Watanabe *et al.*, 1998; Ma *et al.*, 1997, Ma y Miyasaka, 1998) y concluyen que la estabilidad de Al-citrato y Al-oxalato es significativamente más grande que el complejo Al-complejo ATP. Esto sugiere que se produce una efectiva quelación que reduce la actividad de Al^{3+} en el citosol, previniendo una formación de complejos entre el Al y compuestos celulares sensibles y, con lo mencionado anteriormente, se supone que las SH potencializaron la inhibición del Al dentro de la planta.

Para el Cr, Gupta y Sinha (2007) reportan un FT de 7.05 en esta especie, por lo que no puede aseverarse que sea una especie exclutora de Cr atribuyéndose la reducida translocación de Al y Cr en órganos aéreos posiblemente debida a la secuestación de estos metales dentro de las vacuolas celulares de la raíz, tal vez para reducir su toxicidad (Shanker *et al.*, 2005). Una mayor concentración en raíces que en órganos aéreos fue

establecido para plantas adaptadas a suelos contaminados de Cr (Khan, 2001) y se ha reportado que la mayoría de las plantas tolerantes absorben muy bajas cantidades de este metal en el suelo (Liu *et al.*, 2004).

Gupta y Sinha (2007) en plantas de *R. communis* L. reportan un FT de 2.25 para Mn. El FT obtenido en este estudio muestra valores similares a estos autores. Sin embargo, cabe mencionar que la distribución del Mn de las células radicales en comparación con el resto de la planta involucra un transporte primario a través del xilema, la transferencia del xilema al floema y su retranslocación al xilema (Humphries *et al.*, 2007). El transporte de las raíces a los órganos vegetales es generado por la transpiración, mientras el transporte hacia el floema es más selectivo (Marschner, 1995). No obstante, se ha reportado que el Mn tiene una baja movilidad en el floema y su distribución depende de la especie vegetal y etapa de desarrollo (Herren y Feller, 1994). El Mn tiene relativamente una baja movilidad en el floema (Rengel, 2001) y esto puede ser debido a una restricción del Mn soluble dentro del floema o por una insolubilización en las hojas (Page *et al.*, 2006). Page y Feller (2005), enfatizaron que los mecanismos involucrados en el transporte del Mn en el floema y sus formas químicas de transporte son poco conocidos. Adicionalmente, el transporte del Mn es importante para la translocación de este metal en la célula y en los orgánulos celulares. Estos mecanismos involucran la translocación del Mn a través de la membrana plasmática y las biomembranas de los orgánulos (Ducic y Polle, 2005). Los posibles mecanismos de homeostasis y transporte de Mn, basados en estudios realizados en células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y en plantas de *Arabidopsis thaliana*, han sido discutidos (Delhaize *et al.*, 2007; Reddi *et al.*, 2009). Por lo mencionado anteriormente, puede enfatizarse que la aplicación de las SH potencializaron un aumento en la translocación del Mn para *R. communis* L.

La absorción y concentración de Ni en órganos aéreos puede diferir marcadamente entre la misma especie aún establecidas en el mismo suelo. Por ejemplo, Hutchinson y Whitby (1974) reportan concentraciones de 902 mg/kg de Ni en *Deschampsia flexuosa* y 92 mg/kg en el follaje de *Vaccinium angustifolium* establecidas en el mismo sitio. En especies de *V. angustifolium* (Bagatto y Shorthouse, 1991) mencionan que el patrón de acumulación de Ni

fue raíz <tallos <hojas <frutos. Sugiriendo que uno de los factores que explican esta tendencia es la no esencialidad general del Ni como nutrimento de las plantas, una menor movilidad dentro de la planta y mayor disponibilidad en suelos ácidos. Para *R. communis* L. Gupta y Sinha (2007) reportan un FT para Ni de 1.38, por lo que no es posible definir que esta especie no acumule Ni en sus tejidos aéreos.

Los datos sugieren que el Pb no quedó retenido en las raíces y fue transportado hacia órganos aéreos. Un mecanismo de difusión podría permitir el transporte con la savia de tallos y hojas. Miller y Koepe (1971) demostraron que plantas de *Zea mays* L. translocaron y acumularon cantidades significativas de Pb en hojas. Jarvis y Leung (2002) mencionan que la combinación de agentes quelantes (H-EDTA o EDTA) y pH ácidos impiden la retención de Pb en las paredes celulares de las raíces haciéndolo disponible para su translocación a órganos aéreos. El movimiento o translocación de Pb de los pelos radicales a las raíces principales aparentemente es impedido por un sinnúmero de procesos bioquímicos y físicos que involucran la vinculación, inactivación o precipitación de Pb (Koepe, 1981).

Cuando el FT es >2 la planta es considerada como hiperacumuladora de Pb (Ma *et al.*, 2001). El FT obtenido en los tres muestreos supera esta cantidad en todos los tratamientos. Gupta y Sinha (2007) reportan un FT de 0.63 en plantas de *R. communis* L. sin aplicación de SH y Miniño *et al.* (2014) en plantas de ricino reportaron como valores más altos un FT de 1.73 y 1.18 al aplicar diferentes tratamientos de EDTA. Por tanto, se puede considerar que la alta translocación de Pb en los órganos aéreos podría significar una fuerte afinidad de las SH húmicas con este metal (Farrel y Jones, 2010). Estos complejos entran rápidamente a las raíces a través de la endodermis y la banda de Caspari la cual finalmente transporta el Pb a los tallos y hojas de las plantas (Bell *et al.*, 1991) y su transporte dentro de las células vegetales está relacionado con las proteínas, las cuales juegan un importante papel en la homeostasis de los metales pesados. Primero el metal entra a través de los fosfolípidos y después entra al citoplasma celular, aquí los iones de Pb son quelatados por compuestos que contienen grupos SH (ejemplo: fitoquelatinas, glutationas, ácidos

orgánicos u otros ligandos) y entra a las vacuolas celulares (Piechalak *et al.*, 2003), donde ocurre una desintoxicación por secuestro metálico (Irtelli y Navari-Izzo, 2006).

Finalmente, el Zn muestra un FT >1, lo cual significa que no hubo inmovilización en las raíces como una estrategia de exclusión en las plantas de *R. communis* L. establecidas en el suelo agrícola y consecuentemente, los metales antes mencionados son transportados a los órganos aéreos por un mecanismo de difusión. Sin embargo, la baja o nula translocación de metales a los órganos aéreos puede indicar un secuestro de los metales en las vacuolas celulares de las raíces como un mecanismo para reducir su toxicidad (Shanker *et al.*, 2005). El proceso de translocación de un metal puede ser afectado por la presencia de otros metales en el suelo (Luo y Rimmer, 1995), debido a la competencia entre los iones metálicos por los sitios de adsorción, esto influye significativamente debido a interacciones de sinergismo o antagonismo entre metales (Kahle, 1993; Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Además se ha reportado que la mayoría de las plantas tolerantes acumulan los metales en las raíces y almacena menores cantidades en tallos y hojas (Liu *et al.*, 2004).

Los valores de FT en las plantas dependen de varios factores. Una explicación de la translocación de metales pesados en plantas lo menciona Salt *et al.*, (1995) quienes indican que el ácido abscísico induce al cierre estomático reduciendo dramáticamente la acumulación de Pb en plantas de *Brassica Juncea*. En tal caso, el uso de SH como agentes quelantes incrementaron significativamente la absorción de los metales por las plantas y al mismo tiempo son eficientes en promover la translocación del Mn, Ni, Pb, Zn, en la planta, lo cual podría ser una ventaja para la remoción de este elementos (Epstein *et al.*, 1999).

5.8. Capacidad de intercambio catiónico en raíces (CICr)

Los resultados obtenidos en este estudio muestran un incremento en la CICr con el tiempo de evaluación y, a excepción de la dosis de 6 mL, el resto de los tratamientos tuvieron su valor máximo a los 180 d. Es notorio también que las muestras analizadas de los tres tratamientos de SH presentaron valores más altos en la CICr desde el primer periodo de evaluación en comparación con el testigo. El análisis estadístico muestra diferencias estadísticas entre los periodos de evaluación y las diferentes dosis de SH (Tabla 7).

Tabla 7. Valores de la CICr en plantas de *R. communis* L. Letras diferentes entre medias de la columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05).

Periodo	[SH]	P>F
60 d	T	12.667 a
	2 mL	24.000 ab
	4 mL	15.667 ab
	6 m	16.000 ab
120 d	T	20.000 ab
	2 mL	27.000 abc
	4 mL	30.000 abc
	6 m	44.000 bc
180 d	T	29.667 abc
	2 mL	54.000 c
	4 mL	42.333 bc
	6 m	33.667 6 abc

La distribución, acumulación y tolerancia de metales en plantas está relacionado con la especie vegetal, especies químicas del elemento y su biodisponibilidad, así como un gran número de condiciones ambientales como reacciones redox, pH, con procesos fisiológicos tales como su absorción y transporte de los iones metálicos por las raíces, producción de fitoquelatinas, estrés oxidativo y la CICr (Cheng, 2003; Suresh y Ravishankar, 2004; Weis y Weis, 2004).

La CICr explica las diferencias de absorción de cationes por las plantas (Elgabaly y Wiklander, 1949; Mattson *et al.*, 1949; Huffaker y Wallace, 1958) específicamente en la adsorción selectiva de diferentes cationes a las superficies radiculares (Kirkby y Pilbeam, 1984) y difiere entre especies monocotiledóneas y dicotiledóneas; para las primeras los rangos se reportan entre 20 y 50 cmol/kg (Dufey *et al.*, 2001). Las plantas pueden optimizar su crecimiento bajo una gran variedad de iones en el suelo (Den Herder *et al.*, 2010), en este sentido, se ha reportado que la afinidad de los cationes para los sitios intercambiables sobre las paredes celulares radicales disminuyen en el siguiente orden: H> Cu> Ca> Zn de acuerdo con Nishizono *et al.* (1987) y H> Cu> Zn> Ca de acuerdo con Ernst *et al.* (1992). Los grupos carboxilos (-COOH), carbonilos (-COO⁻) y oxhidrilos (-OH⁻) pueden complejar y/o quelar cationes en la solución del suelo, llevarlos a la pared celular de la raíz y de ahí

transportarlos a través del torrente xilemático del tallo hacia la hoja (Meychik y Yermakov, 2001; Evangelou *et al.*, 2004).

Particularmente, las muestras con adición de las SH sobrepasaron al tratamiento testigo durante los tres periodos (Figura 16), lo que podría deberse a la gran cantidad de grupos funcionales (principalmente $-\text{COOH}^-$, $-\text{COO}^-$ y $-\text{OH}^-$) presentes en su estructura molecular, que podrían haber formado una capa de cargas negativas alrededor de la raíz (Lundegårdh, 1945) y gracias a la presencia de grupos funcionales, que forman “puentes” con los cationes y se pueden fijar a las membranas celulares, las raíces adquieren un potencial negativo y, por ende, aumentan su CICr y la absorción de cationes (Teorell, 1935).

Dada la especificidad de la CICr de las especies vegetales (Haynes, 1980), su papel específico en la adsorción selectiva de diferentes iones a las superficies radiculares (Wacquant, 1977) proyecta el contenido de cationes a través de la adición de agentes quelantes. Éstas son observaciones importantes que requieren mayor número de investigaciones experimentales por lo que es un área de oportunidad para futuras investigaciones. La Figura 16 presenta de manera gráfica los datos ya señalados.

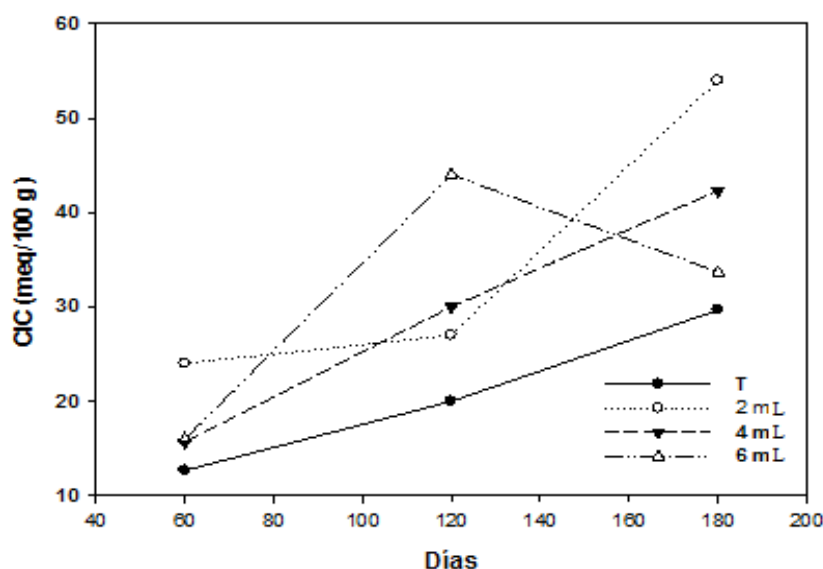


Figura 16. Comportamiento de la CICr en diferentes periodos y sometidos a diferentes concentraciones de SH

5.9. Producción de masa seca

Uno de las principales características al momento de elegir una especie hiperacumuladora de metales pesados, es su producción de biomasa, debido a que este aspecto determina que la especie vegetal pueda emplearse en la fitoextracción. En este estudio, debido a la falta de repeticiones no fue posible obtener resultados que representen diferencias estadísticas significativas. Sin embargo se consideró el último muestreo (180d) para representar la producción de biomasa de esta especie a través de la sumatoria de la masa seca de la raíz, tallo, hoja y peciolo de cada una de las plantas de *R. communis* L. con respecto a los tratamientos de SH (Figura 17). La planta ideal para la fitorremediación debe presentar rápido crecimiento, alta producción de biomasa, raíces profundas, facilidad de cosecha, tolerar varios metales y acumularlos en sus órganos vegetales (Garbisu y Alkorta, 2001; Clemens *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos están en acuerdo con diversos autores (Giordani y Cecchi, 2005; Mahmud *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2011; Baudh y Singh, 2012a, b), quienes reportan a *R. communis* L. como una alternativa para ser empleada en la fitoextracción de suelos contaminados porque es una planta robusta y de rápido crecimiento.

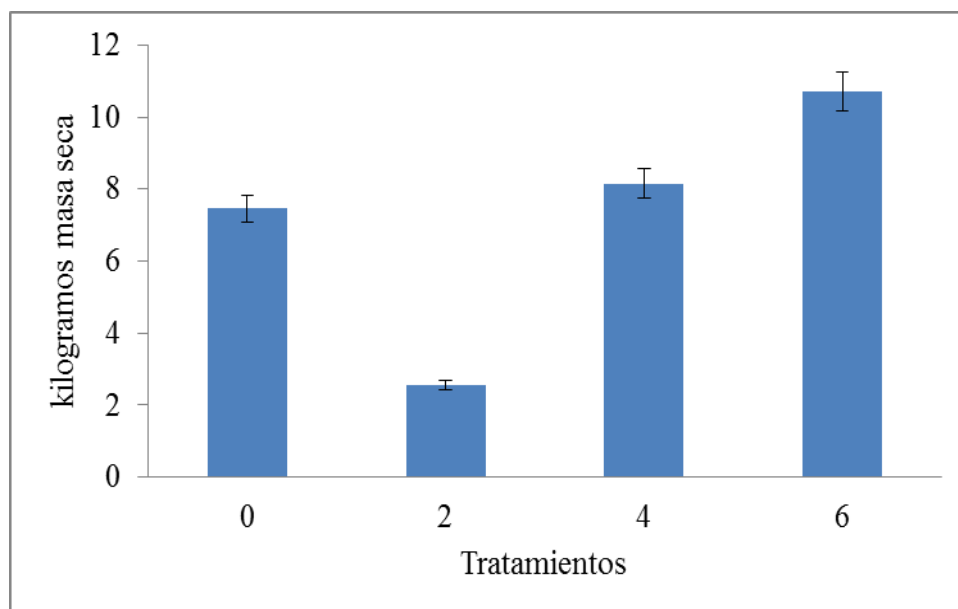


Figura 17. Producción de masa seca (kg) de plantas de *R. communis* L. 0, 2, 4, 6 se refiere a los mL de SH aplicados durante 180 días

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos general, de evaluar el efecto de la aplicación en el suelo de tres diferentes dosis de sustancias húmicas sobre el potencial de fitoextracción y bioacumulación de metales pesados de plantas de higuera en un suelo agrícola contaminado con metales pesados, particulares: Evaluar las características físico-químicas del suelo en tres periodos para determinar la influencia de la aplicación de sustancias húmicas sobre la biodisponibilidad de los metales pesados del suelo y su modificación, determinar la concentración de metales pesados en plantas de higuera (*Ricinus communis* L.), agua y suelo y relacionarlas con las diferentes concentraciones de ácidos fúlvicos, determinar el índice de bioacumulación y el factor de translocación y evaluar la influencia de diferentes dosis de sustancias húmicas, en la capacidad de intercambio catiónico radicular (CICr) en plantas de *Ricinus communis* L. y su efecto en la fitoextracción de metales pesados, así como las hipótesis planteadas: Al menos un tratamiento de los agentes quelantes orgánicos (SH) potencializará la fitoextracción de metales pesados de un suelo agrícola contaminado y las plantas de higuera cumplen con el rango de plantas hiperacumuladoras para la fitoextracción de al menos un metal pesado en relación a su biomasa, se tienen las siguientes conclusiones:

- La constante aplicación de las tres diferentes dosis de SH no modificaron significativamente las bases intercambiables, BI, la capacidad de intercambio catiónico, CIC, y la textura del suelo. Sin embargo, el pH y el contenido de materia orgánica, MO, aumentaron significativamente. Las características físico-químicas evaluadas de la muestra inicial de suelo presentaron valores altos de BI, CIC y MO, de acuerdo con la NOM-021-SEMARANT-2000. La concentración de metales pesados en todas las muestras de suelo agrícola están por debajo del límite de contaminación de acuerdo con la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.
- La adición de SH al suelo promovió la biodisponibilidad de los metales pesados analizados. Esto ocurrió durante los primeros 60 días pero, a partir de los 120 y hasta los 180 días que duró el experimento se redujo su biodisponibilidad.

- El agua de pozo y del río Metztitlán en la zona de estudio no presentó problemas de contaminación de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-1996. Las concentraciones de los metales pesados evaluados (Al, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb, Zn) estuvieron por debajo del límite de detección. Es importante mencionar que previamente a esta experimentación hubo lluvias torrenciales en la zona que, muy probablemente hayan transportado y/o diluido las cantidades de metales pesados y otros contaminantes que, en épocas normales, sí serían un problema ambiental.
- El uso de diferentes dosis sustancias húmicas aumentaron significativamente la concentración de metales pesados en los órganos vegetales.
- El tratamiento de 2 mL a los 60 días potencializaron la absorción de Al en raíz, Mn y Zn en hoja.
- La dosis de 4 mL a los 60 días aumentó la concentración de Ni en el tejido foliar.
- El tratamiento de 6 mL a los 120 días potencializó las concentraciones de Mn, Pb y Zn en hojas de las plantas de *R. communis* L. corroborándose la primera hipótesis propuesta.
- *R. communis* L. mostró ser una planta útil para la fitoextracción de algunos metales pesados, ya que el IB fue positivo.
- De acuerdo con los valores de FT obtenidos, esta planta presenta características que favorecen la hiperacumulación de Ni, Pb y Zn corroborándose la hipótesis respectiva.
- La aplicación de los diferentes tratamientos de SH generó un incremento en la CICr conforme aumentó el tiempo de aplicación, lo cual podría indicar una mayor adsorción de nutrimentos y metales pesados por *R. communis* L.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Adriano DC (2001). Bioavailability of trace metals. In: Brickner MA (Ed). Trace Elements in Terrestrial Environments - Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Springer-Verlag, New York, US, 262p.
- Ali H, Khan E, Sajad MA (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. Chemosphere, 91: 869-881.
- Alkorta I, Hernández-Allica H, Becerril JM, Amezaga I, Albizu I, Onaindia M, Garbisu C (2004). Chelate enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Reviews Environmental Science Biotechnology, 3: 55-70.
- Alleoni LRF (2000). Química de latossolos ácidos. Piracicaba: USP/ESALQ, 000 (Texto - Livre-Docência). 121p.
- Alloway BJ (1990). Cadmium. In: Alloway BJ (Ed), Heavy Metals in Soils. Wiley, New York, US, 124p.
- Alloway BJ (2004). Zinc in soils and crop nutrition. IZA Publications. International Zinc Association, Brussels, 116p.
- Altin A y Degirmenci M (2005). Lead (II) removal from natural soils by enhanced electrokinetic remediation. Journal Science Total Environmental, 337: 1-10.
- Álvarez-Fernández A, Paniagua P, Abadía J, Abadía A (2003). Effects of Fe deficiency chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 5738-5844.
- Ananthi TA, Siva RS, Meerabai R, Krishnasamy R (2012). Potential of *Ricinus communis* L. and *Brassica juncea* (L.) Czern. under natural and induced Pb phytoextraction. Universal Journal of Environmental Research and Technology, 2: 429-438.

- Angelova V, Ivanova R, Delibaltova V, Ivanov K (2004). Bioaccumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial Crops and Products*, 19: 197-205.
- Antoniadis V, Robinson JS, Alloway BJ (2008). Effects of short-term pH fluctuations on cadmium, nickel, lead, and zinc availability to ryegrass in a sewage sludge amended Field. *Chemosphere*, 71: 759-764.
- Arévalo GE y Gauggel CA (2008). Manual de prácticas. Curso de manejo de suelos y nutrición vegetal. Zamorano, Honduras. 3ª Edición. 60p.
- Arias M, Pérez-Novio CP, Osorio F, López E, Soto B (2005). Adsorption and desorption of copper and zinc in the surface layer of acid soils. *Journal of Colloid and Interface Science*, 288: 21-29.
- Arunachalam P, Kannan P, Prabukumar G, Govindaraj M (2013). Zinc deficiency in Indian soils with special focus to enrich zinc in peanut. *African Journal of Agricultural Research*, 8(50): 6681-6688.
- Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Mench M, Pietramellara G, Nannipieri P, Renella G (2009). Composition, biomass and activity of microflora, and leaf yields and foliar elemental concentrations of lettuce, after in situ stabilization of an arsenic-contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 41: 351-359.
- Ashley PM, Craw D, Graham BP, Chappell DA (2003). Environmental mobility of antimony around mesothermal stibnite deposits, New South Wales, Australia and southern New Zealand. *Journal Geochemical Exploration*, 77: 1-14.
- Athalye VV, Ramachandran V, D'Souza TJ (1995). Influence of chelating agents on plant uptake of ^{51}Cr , ^{210}Pb and ^{210}Po . *Environmental Pollution* 89: 47-53.
- Avudainayagam S, Megharaj M, Owens G, Kookana RS, Chittleborough D, Naidu R. (2003). Chemistry of chromium in soils with emphasis on tannery waste sites. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 178: 53-91.

- Bagatto G y Shorthouse JD (1991). Accumulation of Cu and Ni in plant tissues and insect gall of lowbush blueberry, *Vaccinium augustifolium*, near an ore smelter at Sudbury, Ontario, Canada. *Canadian Journal of Botany*, 69(7): 1483-1490.
- Baker AJM (1981). Accumulators and excluders—Strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal Plant Nutrition*, 3: 643-654.
- Baker AJM y Brooks RR (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1: 81-126.
- Baker AJM y Walker PL (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Shaw, AJ (Ed), CRC Press, Boca Raton, Florida, US. 155 p.
- Baker AJM, McGrath SP, Reeves RD, Smith JAC (2000). Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Terry, N. and Bañuelos G (Eds). Lewis Publishers CRC Press, GS Boca Raton, Florida, US, pp. 85-107.
- Barcelo J y Poschenrieder C (2011). Hiperaccumulation of trace elements: from uptake and tolerance mechanisms to litter decomposition; selenium as an example. *Plant and Soil*, 341: 31-35.
- Barcelo J, Poschenrieder C (2004) Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. In: *Heavy metal stress in plants*, Prasad MNV (Ed). 3rd edn. Springer, Berlin, pp. 223-248.
- Barlett RJ, James BR (1988). Mobility and bioavailability of chromium in soils. In: Nriagu JO, Nieboer E (eds), *Chromium in natural and human environment*, John Wiley and Sons Inc, New York, US, pp. 267–304.
- Barnhart J (1997). Occurrences, uses, and properties of chromium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26: 53-57.

- Barrow NJ (1993). Mechanisms of Reaction of Zinc with Soil and Soil Components. In: Robson AD (ed.) Zinc in Soils and Plants, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, 15-32 pp.
- Bar-Tal A, Baryosef B, Chen Y (1988). Effects of fulvic-acid and pH on zinc sorption on montmorillonite. Soil Science, 146: 367-373.
- Basta NT, Ryan JA, Chaney RL (2005). Trace element chemistry in residual-treated soil: key concepts and metal bioavailability. Journal Environmental Quality, 34: 49-63.
- Battaglia, A, Calace N, Nardi E, Petronio B, Pietroletti M (2007). Reduction of Pb and Zn bioavailable forms in metal polluted soils due to paper mill sludge addition. Effects on Pb and Zn transferability to barley. Bioresource Technology, 98: 2993-2999.
- Bauidh K y Singh RP (2012a). Cadmium tolerance and its phytoremediation by two oil yielding plants *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) from the contaminated soil. International Journal Phytoremediation, 14: 772-785.
- Bauidh, K y Singh RP (2012b). Growth, tolerance efficiency and phytoremediation potential of *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) in salinity and drought affected cadmium contaminated soil. Ecotoxicology Environmental Safety, 85: 13-22.
- Baumann A (1885). Das Verhalten von Zinksätzen gegen Pflanzen und im Boden. Landwirtsch. Vers.-Statn, 31: 1-53.
- Bell PF, Chaney RL, Angle JS (1991). Free metal activity and total metal concentrations as indexes of micronutrient availability to barley [*Hordeum vulgare* (L.) 'Klages']. Plant and Soil, 130: 51-62.
- Bellpart C (1996). Nueva agricultura biológica en equilibrio con la agricultura química. Ediciones Mundi-Prensa, Barcelona, España, 298 p.
- Bennett BG (1982). Exposure of man to environmental nickel - an exposure commitment assessment. Science Total Environmental, 22(3): 203-212.

- Berti RW y Scott DC (1997). In-Place Inactivation of Pb in Pb-Contaminated Soils. *Environmental Science Technology*, 31(5): 1359-1364.
- Bianchi V, Masciandaro G, Ceccanti B, Doni S, Iannelli R (2010). Phytoremediation and bio-physical conditioning of dredged marine sediments for their re-use in the environment. *Water Air and Soil Pollution*, 210: 187-195.
- Bianchi V, Masciandaro G, Giraldo D, Ceccanti B, Iannelli R (2008). Enhanced heavy metal phytoextraction from marine dredged sediments comparing conventional chelating agents (citric acid and EDTA) with humic substances. *Water, Air and Soil Pollution*, 193: 323-333.
- Bishnoi NR, Anita D, Gupta VK, Sawhney SK (1993). Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 47: 47-57.
- Blaylock MJ y Huang JW (2000). Phytoextraction of metals. In: Raskin I, Ensley BD, (Eds), In: *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean up the Environment*. John Wiley & Sons, Inc., New York, US, 70p.
- Bodek I, Lyman WJ, Reehl WF, Rosenblatt DH (1988). *Environmental Inorganic Chemistry: Properties, Processes and Estimation Methods*, Pergamon Press, Elmsford, New York, US, pp. 1-10.
- Bohn HL, McNeal BL, O'Connor GA (2001). *Soil chemistry*, 3rd edition ed. John Wiley & Sons, Inc., New York, US, 320p.
- Bolan N, Kunhikrishnan A, Thangarajana R, Kumpiene J, Parke J, Maktouf T (2014). Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils - to mobilize or to immobilize? *Journal Hazardous Materials*, 266: 141-166.
- Bolan NS y Duraisamy VP (2003). Role of inorganic and organic soil amendments on immobilization and phytoavailability of heavy metals: a review involving specific case studied. *Australian Journal Soil Restoration*, 41(3): 533-555.

- Bolan NS, Adriano DC, Natesan R, Koo BJ (2003). Effects of organic amendments on the reduction and phytoavailability of chromate in mineral soil. *Journal of Environmental Quality* 32: 120-128.
- Bouyoucos GJ (1962). Hydrometer improved method for making particles size analysis of soil. *Agronomy Journal*, 54: 464-465.
- Bowen, HJM (1979). *Environmental chemistry of the elements*. Academic Press, London, New York, US, 320p.
- Bride MB (1994). *Environmental chemistry of soils*, Oxford University Press, New York, US, 406p.
- Brooks RR (1998). Geobotany and hyperaccumulators. In: Brooks RR (Ed), *Plants That Hyperaccumulate Heavy Metals*. CAB International, Wallingford, United Kingdom, 55–94 pp.
- Brümmer G, Tiller KG, Herms U, Clayton PM (1983). Sorption-desorption and/or precipitation-dissolution processes of zinc in soils. *Geoderma*, 31: 337-354.
- Buckman H y Brady NC (1966). *The Nature and Properties of Soils*. The Macmillan company, New York, US, 590p.
- Buffle J, Greter F, Haerdi W (1977). Measurement of complexation properties of humic and fulvic acids in natural waters with lead and copper ion-selective electrodes. *Anal. Chem.*, 49(2): 216-222.
- Cadahia C (2005). *Fertirrigación/Cultivos hortícolas, frutales y ornamentales (2005)*. Ediciones Mundi-prensa, España, pp. 33-46.
- Cakmak I (2002). Plant nutrition research: Priorities to meet human needs or food in sustainable ways. *Plant and Soil*, 247: 3-24.
- Cakmak I (2004). Identification and correction of widespread zinc deficiency in Turkey - A success story (a NATO-Science for Stability Project). *Proceedings of the International Fertiliser Society*, 552: 1-26.

- Calder, LM (1988). Chromium Contamination of Groundwater. In: Nriagu JO and Nieboer E (Eds), Chromium in the Natural and Human Environments, John Wiley & Sons, New York, US, Vol. 20: 230p.
- Caltado DA, McFadden KM, Thomas R, Garland Wilddung RE (1988). Organic constituent and complexation of Nickel (II), Cadmium (II) and Plutonium (VI) in soybean xylem exudates. *Plant Physiology*, 86: 734-739.
- Camargo OA, Rovers H, Valadares JMAS (1989). Adsorção de níquel em latossolos paulistas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 13: 125-129.
- Camargo T (1999). Inventario de aguas superficiales del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, México, 10-16 pp.
- Cary EE (1982). Chromium in air, soil and natural waters. In: Biological and environmental Aspects of chromium. Langard S (Ed), New York, NY. Elsevier Biomedical Press, pp. 49-64.
- Casierra-Posada, F y Cárdenas-Hernández JF (2007). Influencia del aluminio sobre el crecimiento de la raíz en coliflor (*Brassica oleracea* L., var. Botrytis, Hib. 'Nevada F1'). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 10(1): 149-157.
- Catlett KM, Heil DM, Lindsay WL, Ebinger MH (2002). Soil chemical properties controlling Zn^{+2} activity in 18 Colorado soils. *Soil Science Society American Journal*, 66: 1182-1189.
- CBGM CB Marketing Group (2009). Disponible en: <http://www.cbmg.com.mx/productos.htm>, consultado el 30 de abril del 2015.
- Chandra Sekhar K, Kamala CT, Chary NS, Balaram V, García G (2005). Potential of *Hemidesmus indicus* for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. *Chemosphere*, 58: 507-514.
- Chaney RL (1983). Plant uptake of inorganic waste constituents. In: Parr JF, Marsh PB, Kla JM (Eds), Land Treatment of Hazardous Waste. Noyes Data Corporation, Park Ridge NJ, 5076p.

- Chaney RL, Angle JS, Broadhurst CL, Peters CA, Tappero RV, Sparks DL (2007). Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal Environmental Quality*, 36: 1429-1443.
- Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJ (1997). Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 8: 279-284.
- Chaney RL, Li YM, Brown SL, Homer FA, Malik M, Angle JS, Baker AJM, Reeves RD (2000). Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: Terry N and Bañuelos G (Eds), *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, US, 129-158 pp.
- Chapman HD (1995). Cation exchange capacity. In: Black CA (Ed), *Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy. Agronomy, Madison, Wisconsin. Series No. 9, part 2, 901p.
- Chaudhuri D, Tripathy S, Veeresh H, Powell MA, Hart BR (2003). Relationship of chemical fractions of heavy metals with microbial and enzyme activities in sludge and ash-amended acid lateritic soil from India. *Environmental Geology* 45: 115-123.
- Chen CW, Kao CM, Chen CF, Dong CD (2007). Distribution and accumulation of heavy metals in the sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Chemosphere*, 66: 1431-1440.
- Chen YX, Lin Q, Luo YM, He YF, Zhen SJ, Yu YL, Tian GM, Wong MH (2003). The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*, 50: 807–811.
- Cheng S (2003). Review articles: Heavy metals in plants and phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 10(5): 335-340.

- Clemens S, Palmgren MG, Krämer U (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science*. 7: 309-315.
- CONANP-SEMARNAT (2003). Programa de manejo, Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, México, D.F., 202 p.
- Cornelis RM y Nordberg (2007). General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation. *Handbook on the toxicology of metals*, pp. 29-35.
- Cumming JR y Weinstein LH (1990). Aluminum-mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings. *Plant Soil*, 125: 7-18.
- Davies B (1988). Lead in Soils: Its Sources and Typical Concentration. In: Davies B and Wixson B (Eds), *Lead in Soil: Issues and Guidelines*, Environmental Geochemistry and Health Monograph Series 4, Supplement to Volume 9 of *Environmental Geochemistry and Health*, Science Reviews Limited, Northwood, United Kingdom. 65-72 pp.
- Davies BE (1995). Lead. In Alloway BJ (Eds), *Heavy Metals in Soils*, Blackie Academic & Professional, London, United Kingdom, pp. 206-223.
- De Filippis LF y Pallaghy CK (1994). Heavy metals: Sources and biological effects. In: LC Rai LC, Gaur JP, Soeder CJ (Eds), *Algae and Water Pollution*. E Schweizerbart'sche, Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, Germany, pp. 31-77.
- del Castilho P, Chardon WJ, Salomons W (1993). Influence of cattle-manure slurry application on the solubility of cadmium, copper, and zinc in a manured acidic, loamy-sand soil. *Journal of Environmental Quality*. 22: 689-697.
- Delhaize E, Gruber BD, Ryan PR (2007). The roles of organic anion permeases in aluminium tolerance and mineral nutrition. *FEBS Letters*, 581: 2255-2262.
- Delhaize E, Ryan PR, Randall PJ (1993). Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminum stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiology*, 103: 695-702.

- Den Herder G, Van Isterdael G, Beeckman T, De Smet I (2010). The roots of a new green revolution. *Trends Plant Science*, 15: 600-607.
- Di Palma L, Ferrantelli P, Merli C, Petrucci E, Pitzolu I (2007). Influence of soil organic matter on copper extraction from contaminated soil. *Soil Sediment Contamination*, 16: 323-335.
- DOF (2009). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. Secretaría de Economía. Jueves 24 de septiembre de 2009 DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. México D.F., México.
- Dowdy RH y Volk VV (1983). Movement of heavy metals in soils. In: Nelson DW (Ed), *Chemical Mobility and Reactivity in Soil Systems*. Spec. Publ. 11.SSSA., pp. 229-240.
- Driscoll CT, Fuller RD, Simone DM (1988). Longitudinal variations in trace metal concentrations in a northern forested ecosystem, *Journal Environmental Quality*, 17: 101-107.
- Ducic T y Polle A (2005). Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Brazilian Journal Plant Physiology*. 17: 103-112.
- Dufey JE, Genon JG, Jaillard B, Calba H, Rufyikiri G, Delvaux B (2001). Cation exchange on plant roots involving aluminium: experimental data and modeling. In: Gobran GR, Wenzel WW, Lombi E (Eds), *Trace Elements in the Rhizosphere*. CRC Press LCC, Boca Raton, FL, US, pp. 228–252.
- Ebbs SD, Zambrano MC, Spiller SM, Newville M (2009). Cadmium sorption, influx, and efflux at the mesophyll layer of leaves from ecotypes of the Zn/Cd hiperacumulador *Thlaspi caerulescens*. *The New Phytologist*, 181: 626-636.
- EHC (1991). Nickel. *Environmental Health Criteria 108*. World Health Organization, Geneva.

- Ehrlich HL (2002). Geomicrobiology of iron. Geomicrobiology, Ehrlich HL (Ed), Marcel Dekker, Inc., New York, US, pp. 345–428.
- Elgabaly MM y Wiklander L (1949). Effect of exchange capacity of clay mineral and acidoid content of plant on uptake of sodium and calcium by excised barley and pea roots. Soil Science, 67: 419-424.
- El-Jaoual T y Cox D (1998). Manganese toxicity in plants. Journal Plant Nutrition, 21: 353-386.
- Elkhatib EA, Mahdy A y Thabet AY (2001). Phytoremediation of Cd-contaminated soils: role of organic complexifying agents in Cd phytoextraction. Land Contamination and Reclamation, 9: 359-366.
- Elliot HA, Liberaty MR, Huang CD (1986). Competitive sorption of heavy metals by soils. Journal Environmental Quality, 15: 214-219.
- EPA (2000). Introduction to phytoremediation. US Environmental Protection Agency. National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and Development, EPA/600/R-99/107. US. (EE. UU.).
- EPA (1995). Microwave assisted acid digestion of aqueous sample and extracts. Method 3015. En: Test methods for evaluating solid waste. Tercera edición, Tercera actualización; United States Environmental Protection Agency, Washington D.C. US. (EE. UU.).
- EPA. 2007a. Guidance for evaluating the bioavailability of metals in soils for use in humanhealth risk assessment. December 2006 OSWER 9285.7-80. May 2007 (available on-line at <http://www.epa.gov/superfund/health/contaminants/bioavailability/guidance.htm>).
- Epstein AL, Gussman CD, Blaylock MJ, Yermiyahu U, Huang JW, Kapulnik Y, Orser, SC (1999). EDTA and Pb–EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb–amended soil. Plant Soil 208: 87-94.

- Ernst WHO, Verkleij JAC, Schat H (1992). Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 41: 229-248.
- Evangelou MWH, Ebel M y Schaeffer A (2007). Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68: 989-1003.
- Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A (2006). Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. *Chemosphere*, 63: 996-1004.
- Evangelou MWH, Hactice D, Andreas S (2004). The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. *Chemosphere*, 57: 207-213.
- FAO-UNESCO (1994). World reference base for soils resources. Food and Agriculture Organization, FAO. United Nations Education Science and Culture Organization, UNESCO. Rome, Italy.
- Farrell M y Jones DL (2010). Use of compost in the remediation of heavy metal contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 175: 575-582.
- Fawzy EM (2008). Soil remediation using in-situ immobilization techniques. *Chemical Ecology*, 24 (2): 147-156.
- Fernando DR, Bakkaus EJ, Perrier N, Baker AJM, Woodrow IE, Batianoff GN, Collins RN (2006). Blackwell Publishing Ltd Manganese accumulation in the leaf mesophyll of four tree species: a PIXE/EDAX localization study. *New Phytologist*, 171: 751–758.
- Fernando DR, Guymer G, Reeves RD, Woodrow E, Baker AJM, Batianoff GN (2009). Foliar Mn accumulation in eastern Australian herbarium specimens: prospecting for “new” Mn hyperaccumulators and potential applications in taxonomy. *Annals of Botany*, 103: 931-939.

- Figuerola LA, Wrobel K, Afton S, Caruso JA, Corona GJ, Wrobel K (2008). Effect of some heavy metals and soil humic substances on the phytochelatin production in wild plants from silver mine areas of Guanajuato, Mexico. *Chemosphere*, 70: 2084–2091.
- Florea, AM y Büsselberg D (2006). Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *Biometals*, 19: 419-427.
- Gahoonia TS, Care D, Nielsen NE (1997). Root hairs and phosphorus acquisition of wheat and barley cultivars. *Plant Soil*, 191: 181-188.
- Gallardo F, Pino M, Alvear M, Borie F (2005). Effect of aluminium on dry matter production and nitrate reductase activity of two wheat genotypes, growing in nutritive solutions. *RC Suelo Nutrition Vegetal*, 5: 30-36.
- Garbisu C y Alkorta I (2001). Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*, 77: 229-236.
- Ge Y, Murray P, Hendershot WH (2000). Trace metal speciation and bioavailability in urban soils. *Environmental Pollution*, 107: 137-144.
- Gherardi M y Rengel Z (2004). The effect of manganese supply on exudation of carboxylates by roots of lucerne (*Medicago sativa*). *Plant Soil*, 260: 271-282.
- Ghosh M y Singh SP (2005). A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution*, 133: 365-371.
- Giordani C y Cecchi S (2005). Phytoremediation of soil polluted by nickel using agricultural crops. *Environmental Management*, 36: 675-681.
- Gjessing ET (1976). *Physical and Chemical Characteristics of Aquatic Humus*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Michigan, US, 120 p.
- Glick BR (2010). Using Soil Bacteria to Facilitate Phytoremediation. *Biotechnology Advances* 28 (3): 367-374.

González-Garduño T (2008). La higuera (*Ricinus communis* L.), notas y usos de Elia Méndez Salazar. Tlahui-Medic. No. 25, I/2008. Consultado el 30 de abril del 2015. Disponible en:

http://www.tlahui.com/medic/medic25/higuera_elia.htm

Gonzaga MI, Santos JA, Ma LQ (2006). Arsenic chemistry in the rhizosphere of *Pteris Vittata* L. and *Nephrolepis exaltata* L. Environmental Pollution, 143: 254-260.

Grenthe I y Puigdomenech I (1997). Symbols, standards, and conventions. In: Grenthe I & Puigdomenech I (Eds), Modelling in Aquatic Chemistry NEA OECD, Paris, Francia, pp. 35–67.

Griffin RA, Au AK, Frost RR (1977). Effect of pH [hydrogen-ion concentration] on adsorption of chromium from landfill-leachate by clay minerals. Journal Environmental Science Health, Part A. Environmental Science Engineering, 12(8): 431–449.

Guo YT y Marschner H (1995). Uptake, distribution and binding of cadmium and nickel in different plant species. Journal Plant Nutrition, 18: 2691-2706.

Gupta AK y Sinha S (2007). Phytoextraction capacity of the plants growing on tannery sludge dumping sites. Bioresource Technology, 98: 1788–1794.

Hale MG y Griffin GJ (1974). Effect of injury on exudation from immature and mature plant fruits. Plant Physiology Abstracts, 13.

Halim M, Conte P, Piccolo A (2003). Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances. Chemosphere, 52: 265–275.

Hamilton CA, Good AG, Taylor GJ (2001). Induction of vacuolar ATPase and Mitochondrial ATP Synthase by Aluminium in an Aluminum-resistant cultivar of Wheat. Plant physiology, 125: 2068-2077.

Hardison DW, Ma LQ, Luongo T, Harris WG (2004). Lead contamination in shooting range soils from abrasion of lead bullets and subsequent weathering. Science Total Environmental, 328: 175-183.

- Harrison RM y Chirgawi MB (1989). Sources of metals in the soil. *Science of Total Environment Journal*, 83: 13–34 pp.
- Harter RD (1983). Effect of soil pH on sorption of lead, copper, zinc, and nickel. *Soil Science Society American Journal*, 47: 47-51.
- Havlin JL, Beaton JD, Tisdale SL, Nelson WL (1999). *Soil Fertility and Fertilizers*. 6th Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ, 499p.
- Haynes RJ (1980). Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: their role in ion accumulation by plants. *Botanical Review*, 46: 75–99.
- Hernández-Allica J, Garbisu C, Barrutia O y Becerril JM (2006). EDTA-induced heavy metal accumulation and phytotoxicity in cardoon plants. *Environmental Experimental Botany*, 60: 26–32.
- Herren T y Feller U (1994). Transfer of zinc from xylem to phloem in the peduncle of heat. *Journal Plant Nutrition*, 17: 1587-1598.
- Hettiarachchi GM, Pierzynski GM, Oehme FW, Sonmez O, Ryan JA (2003). Treatment of contaminated soil with phosphorus and manganese oxide reduces lead absorption by Sprague-Dawley rats. *Journal Environmental Quality*, 32: 1335-1345.
- Hickey MG y Kittrick JA (1984). Chemical partitioning of cadmium, copper, nickel, and zinc in soils and sediments containing high levels of heavy metals. *Journal Environmental Quality*, 13: 372–376.
- Honorato R (1993). *Manual de Edafología*. Editorial Universitaria SA Ediciones, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 193p.
- Howard JL y Sova J (1993). Sequential extraction analysis of lead in Michigan roadside soils: mobilization in the vadose zone by deicing salts. *Journal of Soil Contamination*, 2: 361–378.

- Huang H, Yu N, Wang L, Gupta DK, He Z, Wang K., Zhu Z, Yan X, Li T, Yang X.-E, (2011). The phytoremediation potential of bioenergy crop *Ricinus communis* for DDTs and cadmium co-contaminated soil. *Bioresource Technology*, 102: 11034–11038.
- Huang JW, Chen J, Berti WR, Cunningham SD (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science Technology*, 3: 800–805.
- Hue N (1988). A possible mechanism for manganese toxicity in Hawaii soils amended with a low-Mn sewage sludge. *Journal Environmental Quality*, 17: 473-479.
- Hue N y Mai Y (2002). Manganese toxicity in watermelon as affected by lime and compost amended to a Hawaiian acid Oxisol. *Hortscience*, 37: 656-661.
- Hue NV, Craddock GR, Adams F (1986). Effect of organic acids on aluminium toxicity in subsoils. *Soil Science Society American Journal*, 50: 28-34.
- Huffaker RC y Wallace A (1958). Possible relationships of cation exchange capacity of plant roots to cation uptake. *Soil Science Society American Proceedings*, 22: 392-394.
- Hughes MN y Poole RK (1991). Metal speciation and microbial-growth - the hard (and soft) facts. *Journal of General Microbiology*, 137: 725-734.
- Humphries J, Stangoulis J, Graham R (2007). Manganese. In: Barker: A, Pilbeam D (Eds), *Handbook of Plant Nutrition*, Taylor and Francis, US, 351-366 pp.
- Hutchinson TC y Whitby LM (1974). Heavy metal pollution in the Sudbury mining and smelting region in Canada. I. Soil and vegetation contamination by nickel, copper and other metals. *Environmental Conservation*, 1: 123-132.
- Igwe CA y Nkemakosi JT (2007) Nutrient element contents and cation exchange capacity in fine fractions of southeastern nigerian soils in relation to their stability. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38: 1221-1242.

- Irtelli B y Navari-Izzo F (2006). Influence of sodium nitrilotriacetate (NTA) and citric acid on phenolic and organic acids in *Brassica juncea* grown in excess of cadmium. *Chemosphere*, 65: 1348–1354.
- Jackson ML (1976). *Análisis Químico de Suelos*. Ed. Omega, Barcelona, 662p.
- James BR (1996). The challenge of remediating chromium-contaminated soil. *Journal Environmental Science*, 30: 248–51.
- James BR y Bartlett RJ (1983a). Behavior of Chromium in Soils. VI. Interactions Between Oxidation-Reduction and Organic Complexation. *Journal Environmental Quality* 12: 173-176.
- James BR y Bartlett RJ (1983b). Behavior of Chromium in Soils: VII. Adsorption and Reduction of hexavalent forms. *Journal Environmental Quality* 12(2): 177-181.
- Jarvis MD y Leung DWM (2002). Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an Ultrastructural study. *Environmental and Experimental Botany*, 48: 21-32.
- Johnson A, Gunawardana B, Singhal N (2009). Amendments for enhancing copper uptake by *Brassica juncea* and *Lolium perenne* from solution. *International Journal Phytoremediation*, 11: 215–234.
- Jones DL y Darrah PR (1994). Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil* 166: 247–257.
- Jones LHP, Clement CR, Hopper MJ (1973) Lead uptake from solution by perennial ryegrass and its transport from roots to shoots. *Plant Soil* 38: 403-414.
- Kabata-Pendias A y Mukherjee A (2007). *Trace Elements from Soil to Human*. Springer-Verlag Pub, New York, US, 550p.
- Kabata-Pendias A y Pendias H (1992). *Trace Elements in Soils and Plants*, 2nd Edition, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 315 pp.
- Kabata-Pendias A y Pendias H (2001). *Trace elements in soils and plants*. Third edition. CRC Press Boca Raton, Florida, US, 413p.

- Kabata-Pendias y Pendias H (2000). Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, US, pp. 65-413.
- Kahle H (1993). Response of roots of trees to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, 33:99–119.
- Kakar SUR, Wahid A, Tareen RB, Kakar SA, Jabeen R (2011). Impact of municipal wastewaters of Quetta city on some oilseed crops of Pakistan: Effects on biomass, physiology and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 43(3): 1477-1484.
- Kalbasi M, Racz GJ, Lowen-Rudgers LA (1978). Mechanisms of zinc sorption by iron and aluminum oxides. *Soil Science*. 125: 146-150.
- Kandeler E, Tschirko D, Bruce KD, Stemmer M, Hobbs PJ, Bardgett RD, Amelung W (2000). The structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biology and Fertility of Soils* 32: 390-400.
- Karaca A (2004). Effect of organic wastes on the extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc in soil. *Geoderma*, 122: 297-303.
- Kashem, MA y Singh BR (2001) Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61: 247-255.
- Katagiri B (2012). Estudio sobre la disponibilidad de metales en suelos que recubren depósitos de jales. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 37p.
- Katz SA y Salem H (1994). *The Biological and Environmental Chemistry of Chromium*. VCH Publishers Inc, New York, US, 232p.
- Kerkeb L y Krämer U (2003). The role of free histidine in xylem loading of nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea*. *Journal Plant Physiology*, 131: 716–724.

- Khan AG (2001). Mycorrhizoremediation—an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(7): 503–14.
- Kiekens L (1995). Zinc. In Alloway BJ (Ed), *Heavy Metals in Soils* (2nd edn.). Blackie Academic and Professional, London, United Kingdom, pp. 284-305.
- Kirkby EA y Pilbeam DJ (1984). Calcium as a plant nutrient. *Plant Cell Environmental*, 7: 397-405.
- Kochian LV y Jones DL (1997). Aluminum toxicity and resistance in plants. In: Yokel R and Golub MS (Eds), *Research Issues in Aluminum Toxicity*, Taylor and Francis, Washington, DC, US, pp. 69-90.
- Kochian, LV, Hoekenga OA, Pinos A (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. *Annual Review Plant Biology*. 55: 459–493.
- Koepe DE (1981). Lead: understanding the minimal toxicity of lead in plants. In: Leep NW (Ed), *Effect of heavy metal pollution on plants. (Effect of trace metals on plant functions)*. Applied Science Publishers, London, United Kingdom, Vol. 1, pp. 55-76.
- Kononova MM (1996). *Soil organic matter 2a ed.* Pergamon Press, Oxford, 404 pp.
- Kozuh N, Tupar J, Gorenc B (2000). Reduction and oxidation processes of chromium in soils. *Environmental Science Technology*, 34: 112–119.
- Krauskopf KB (1972). Geochemistry of micronutrients. In: Mortvedt JJ (Ed), *Micronutrients in agricultura*. Soil Science Society of America. Madison, WI, US, pp. 7-40 pp.
- Krishnamurti GSR, Huang PM, Kozek LM (1999). Sorption and desorption kinetics of cadmium from soils: Influence of phosphate. *Soil Science*, 164: 888–898.
- Kumpiene J, Lagerkvist A, Maurice C (2008). Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments — a review. *Waste Management*, 28: 215–225.

- Kuo S, Heilman PE, Baker AS (1983). Distribution and forms of copper, zinc, cadmium, iron, and manganese in soils near a copper smelter. *Soil Science*, 135: 101-109.
- Küpper H, Götz B, Mijovilovich A, Küpper FC, Meyer-Klaucke W (2009). Complexation and toxicity of copper in higher plants. I. Characterization of copper accumulation, speciation, and toxicity in *Crassula helmsii* as a new copper accumulator. *Plant Physiology*, 151: 702–714.
- Kupper H, Mijovilovich A, Meyer-Klaucke W, Kroneck PM (2004). Tissue and age dependent differences in the complexation of cadmium and zinc in the cadmium/zinc hyperaccumulator *Thaspi Caerulescens* (Ganges ecotype) revealed by x-ray absorción spectroscopy. *Plant Physiology*, 134: 748-757.
- Lane SD y Martin ES (1977). A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytologist*, 79: 281-286.
- Lasat MM (2002). Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *Jorunal Environmental Quality*, 31: 109-120.
- Lasat MM (2000). Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Journal Hazard Substance Restoration*, 2: 1-25.
- Leštan D, Luo CL, Li XD (2008). The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review. *Environmental Pollution*, 153: 3–13.
- Li YM, Chaney RL, Brewer EP, Angle JS, Nelkin J (2003). Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils. *Environmental Science Technology*, 37: 1463-1468.
- Liu J, Li K, Xu J, Zhang Z, Ma T, Lu X, Yang J, Zhu Q (2004). Lead toxicity, uptake and translocation in different rice cultivars. *Plant Science*, 165: 793-802.

- Liu M, Hu F, Chen X, Huang Q, Jiao J, Zhang B, Li H (2009). Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: The influence of quantity, type and application time of organic amendments. *Applied Soil Ecology*, 42: 166–175.
- Llugany M, Tolrá R, Poschnrieder C, Barceló J (2007). Hiperacumulación de metales: ¿Una ventaja para la planta y para el hombre?. *Ecosistemas*, 16: 4-9.
- Lofts S, Spurgeon D, Svendsen C (2005). Fractions Affected and Probabilistic Risk Assessment of Cu, Zn, Cd, and Pb in Soils Using the Free Ion Approach, *Environmental Science & Technology*, 39 (21): 8533-8540.
- Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ, McGrath SP (2000). Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New Phytology*, 145: 11–20.
- Losi ME, Amrhein C, Frankenberger WT (1994). Factors affecting chemical and biological reduction of Cr (VI) in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13: 1727–1735.
- Lu X, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Homyok K (2004). Removal of cadmium and zinc by water hyacinth *Eichhornia crassipes*. *Science Asia*, 30: 93–103.
- Lucho CA, Álvarez M, Beltrán RI, Prieto F, Poggi H (2005). 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.
- Lundegårdh H (1945). Absorption transport and exudation of inorganic ions by plant roots. *Archiv für die Botanik*, 32A: 1–139.
- Luo Y y Rimmer DL (1995). Zinc-copper interaction affecting plant growth on metal-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 88: 79–83.
- Ma JF (2000). Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. *Plant Cell Physiology*, 41: 383–390.

- Ma JF, Hiradate S, Nomoto K, Iwashita K, Matsumoto H (1997). Internal detoxification mechanism of Al in Hydrangea. *Plant Physiology*, 113: 1033–1039.
- Ma JF, Ryan PR, Delhaize E (2001). Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Science*, 6: 273–278.
- Ma Z y Miyasaka SC (1998). Oxalate exudation by taro in response to Al. *Plant Physiology*, 118: 861–865.
- Mahmud R, Inoue N, Kasajima S, Shaheen R (2008). Assessment of potential indigenous plant species for the phytoremediation of Arsenic-contaminated areas of Bangladesh. *International Journal of Phytoremediation*, 10: 119–132.
- Malarkodi M, Krishnasamy R, Chitdeshwari T (2008). Phytoextraction of nickel contaminated soil using castor phytoextractor. *Journal of Plant Nutrition* 31: 219–229.
- Manahan, SE (1989). Interactions of Hazardous-Waste Chemicals with Humic Substances. In: Suffet IH and MacCarthy P (Eds), *Aquatic Humic Substances: Influence of Fate and Treatment of Pollutants*. American Chemical Society, Washington DC, USA, pp. 83-93.
- Manrique LA, Jones CA, Dyke PT (1991). Predicting cation exchange capacity from soil physical and chemical properties. *Soil Science Society American Journal*, 50: 787-794.
- Marschner H (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed., Academic Press, London, United Kingdom, 889p.
- Mattson S, Eriksson E, Vahtras K, Williams EG (1949). Phosphate relations in soil and plant. *LantbrHögsk. Annlr.* 16: 457-484.
- McBride MB (1989). Reactions controlling heavy metal solubility in soils. *Advances in Soil Science*, 10: 1-56.
- McBride MB (1994). *Environmental Chemistry of Soils*. New York, New York: Oxford University Press, 406p.

- McCarthy P (2001). The principles of humic substances. *Soil Science*, 166: 738–751.
- McCauley A, Jones C, Jacobsen J (2009). Plant nutrient functions and deficiency and toxicity symptoms. nutrient management module No. 9. A self-study course from the MSU Extension Service Continuing Education Series. Published by Montana State University. 16 p.
- McGowen SL, Basta NT, Brown GO (2001). Use of diammonium phosphate to reduce heavy metal solubility and transport in smelter-contaminated soil. *Journal Environmental Quality*, 30: 493-500.
- McGrath SP (1984). Metal concentrations in sludges and soil from a long-term field trial. *Journal Agricultural Science*, 103: 25–35.
- Mcgrath SP (1995). Nickel. In: Alloway (Ed), *Heavy Metals in Soils* (2nd edn.), Blackie Academic & Professional, London, United Kingdom, 174p.
- McGrath SP y Zhao FJ (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 277-282.
- McLaughlin M (2002). Heavy metals. In: Lal (Ed), *Encyclopedia of soil Science*, pp. 650-653.
- Meers E, Tack FMG, Van Slycken S, Ruttens A, Vangronsveld J, Verloo MG (2008). Chemically assisted phytoextraction: A review of potential soil amendments for increasing plant uptake of heavy metals. *International Journal Phytoremediation*, 10: 390–414.
- Mellis EV y Casagrande JC (2001). Adsorção de níquel em solos ácidos do Estado de São Paulo. In: *Congresso Brasileiro De Ciência Do Solo*, 28., Londrina, 2001. Anais. Londrina: UEL; SBCS, 135 p.
- Méndez MO y Maier RM (2008). Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments-an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives*, 116: 278–283.
- Mengel K y Kirkby EA (2000). *Principles of Plant Nutrition*. Kluwer Academic Publishers, London, 668p.

- Meychik N y Yermakov IP (2001). Ion exchange properties of plant root cell walls. *Plant Soil* 234: 181–193.
- Michalík I (2005). Biochemická podstata esenciality mikroelementov. *Agrochémia* 3: 7-10
- Millar CE, Turk LM, Foth HD (1971). *Fundamentos de la Ciencia del Suelo*. Ed. Continental. México, DF, 304p.
- Miller RJ y Koeppe DE (1971). Accumulation and physiological effects of lead in corn. In: *Proceedings of University of Missouri, Columbia, US*, pp. 186-193.
- Miniño H, Rendina A, Barros M, Bursztyn A, de los Ríos A, Wassner D, de Lorio A (2014). Uso de ligandos orgánicos en la fitoextracción de Plomo por Ricino (*Ricinus communis* L.). *Augmdomus*, 6: 66-80.
- Moffat AS (1999). Engineering plants to cope with metals. *Science*, 285: 369–370.
- Mojiri A (2011). The Potential of Corn (*Zea mays*) for Phytoremediation of Soil Contaminated with Cadmium and Lead. *Biology Environmental Science*, 5: 17-22.
- Moraghan, JT y Mascani HJ (1991). Environmental and soil factors affecting micronutrients deficiencies and toxicities. *Micronutrients Agriculture, Soil Science Society America*, 371-413 pp.
- Morel JL (1997). Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In: Tarradellas, J., G. Bitton and D. Rossed. (Eds.). *Soil Ecotoxicology*, 141-176 pp.
- Mortvedt JJ y Giordano PM (1975). Response of corn to zinc and chromium in municipal wastes applied to soil. *Journal of Environmental Quality* 4: 170–174.
- Mühlbachová G, Šimon T, Pechová M (2005). The availability of Cd, Pb and Zn and their relationships with soil pH and microbial biomass in soils amended by natural clinoptilolite, *Plant Soil and Environment*, 51(1): 26-33.
- Naidu, R, Kookana RS, Sumner ME, Harter RD, Tiller KG (1997). Cadmium sorption and transport in variable charge soils: a review. *Journal Environmental Quality*, 26: 602-617.

- Nascimento CWA y Xing B (2006). Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Science Agricola* 63: 299–311.
- Nishizono H, Ichikawa H, Suziki S, Ishii F (1987). The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athyrium yokoscense*. *Plant Soil*, 101: 15–20.
- NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-051-1981). Disponible: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-051-SCFI2001.pdf>
- NMX-AA-132-SCFI-2006. Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra. Consultado el 17 de octubre del 2014. Disponible en: <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD02/NMX132AA2006.pdf>
- Nolan AL, McLaughlin MJ, Mason SD (2003). Chemical Speciation of Zn, Cd, Cu, and Pb in Pore Waters of Agricultural and Contaminated Soils Using Donnan Dialysis, *Environmental Science and Technology*, 37(1): 90-98.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Norma Oficial Mexicana, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Consultado el 02 de mayo del 2015. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NormasOficialesMexicanas.pdf>
- NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Consultado el 17 de octubre del 2014. Disponible en: <http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3335/1/nom-021-semarnat-2000.pdf>

- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que Establece Criterios para Determinar las Concentraciones de Remediación de Suelos Contaminados por Arsénico, Berilio, Cadmio, Cromo Hexavalente, Mercurio, Níquel, Plomo, Selenio, Talio y Vanadio, Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 11 de Noviembre de 2005. Disponible en: http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf
- Nowack B, Schulin R, Robinson BH (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, 40: 5225-5232.
- Oliveira LB, Araujo MSM, Rosa LP, Barata M, La Rovere EL (2008). Analysis of the sustainability of using wastes in the Brazilian power industry, *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 12: 883–890.
- Ondo AJ, Eba F, Menye BR, Ollui-Mboulou M, Omva-Zue J (2014). Characteristics of a manganese-rich soil and metal accumulation in edible parts of plants in the region of Moanda, Gabon. *African Journal of Agricultural Research*, 9(25): 1952-1960.
- Page V y Feller U (2005). Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants. *Annals Botany*, 96: 425-434.
- Page V, Weisskopf L, Feller U (2006). Heavy metals in white lupin: uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant. *New Phytologist*, 171: 329-341.
- Pandey VC (2013). Suitability of *Ricinus communis* L. cultivation for phytoremediation of fly ash disposal sites. *Ecological Engineering*, 57: 336-341.
- Panizza-de-León A, Carrillo-González R, Bernal-González M, Vaca-Mier M, Durán-Domínguez-de-Bazúa C (2011). Exploration of the ability of *Coleus blumei* to accumulate aluminum. *International Journal of Phytoremediation*. 13(5):421-433.

- Papadopoulos P y Rowell OL (1989). The reactions of copper and zinc with calcium carbonate surface. *Journal Soil Science*, 40: 39-48.
- Paulo ME, Bataglia OC, Kasai FS, Cavichioli JC (1989). Deficiência de boro em mamona. *Bragantia*, 48: 241–247.
- Peixoto PHP, Cambraia J, Sant’Anna R, Mosquim PR, Moreira MA (1999). Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11 (3): 137-143.
- Pellet DM, Papernik LA, Kochian LV (1995) Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta*, 196: 788–795.
- Peng HY, Yang Xe, Jiang LY (2005). Copper phytoavailability and uptake by *Elsholtzia splendens* from contaminated soil as affected by soil amendments. *Environmental Science Health*, 40(5): 839–56.
- Peuke AD y Rennenberg H (2005). Phytoremediation. *EMBO Reports*, 6: 497-501.
- Pichtel J, Kuroiwa K, Sawyerr HJ (2000). Distribution of Pb and Ba in soils and plants of two contaminated sites. *Environmental Pollution* 10: 171-178.
- Piechalak A, Tomaszewska B, Baralkiewick D (2003). Enhancing phytoremediative ability of *Pisum sativum* by EDTA application. *Phytochemistry*, 64: 1239 –1251.
- Pilon-Smits E (2005). Phytoremediation. *Annual Review Plant Biology*, 56: 15–39.
- Poniedziałek M, Sekara A, Stokowska E, Ciura J, Jędrszczyk E (2005). Nickel and manganese accumulation and distribution in organs of nine crops. *Folia Horticulturae*, 17(1): 11-22.
- Porter G, Bajita-Locke J, Hue N, Strand S (2004). Manganese solubility and phytotoxicity affected by soil moisture, oxygen levels, and green manure additions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35: 99-116.

- Poschenrieder CH, Bech J, Llugany M, Pace A, Fenes E, Barcelo J (2001). Copper in plant species in a copper gradient in Catalonia (North east Spain) and their potential for phytoremediation. *Plant and Soil*, 230: 247-256.
- Prasad MNV (2001). *Metals in the environment: analysis by biodiversity*. Marcel Dekker, New York, USA, 487p.
- Prasad MNV y Freitas HM (2003). Metal hyperaccumulation in plants. Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6: 285-321.
- Programa de Conservación y Manejo de Reserva de la Biosfera Barranca de Metztlán, Programa de Conservación y Manejo Reserva de la Biosfera Barranca de Metztlán, 2014. Consultado 15 de octubre del 2014. Disponible: http://www.metztitlan.com.mx/_ReservaBiosfera/ProgramaDidactica/PCMDi_dactica.htm
- Programa Estatal de Preservación y Conservación del Agua 2005-2011. Secretaría de Obras Públicas, Comunicaciones, Transporte y Asentamientos. Gobierno del Estado de Hidalgo. 85 p. Consultado el 02 de marzo del 2015. Disponible en: http://intranet.e-hidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_PreservacionConservacion_Agua.pdf
- Quartacci MF, Argilla A, Baker AJM, Navari-Izzo F (2006). Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard. *Chemosphere*, 63: 918–925.
- Quartacci MF, Irtelli B, Baker AJM, Navari-Izzo F (2007). The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. *Chemosphere*, 68: 1920–1928.
- Radwan MA y Salama AK (2006). Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food Chemical Toxicology*, 44: 1273-1278.

- Rajkumar M y Freitas H (2008). Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* L. in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 71: 834–842.
- RAE (2015). Diccionario de la lengua española. Página electrónica: <http://lema.rae.es/drae/?val=eutrofizaci%C3%B3n>
- Rao IM, Kerridge PC, Macedo MCM (1998). Requerimientos Nutricionales y adaptación a los Suelos Ácidos de Especies de Brachiaria. En: Miles JW, Maass BL and do Valle CB (Eds), *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento*. CIAT, Cali, Colombia and Embrapa/CNPQC, Campo Grande, MS Brazil, pp. 58-78.
- Rattan RK, Datta SP, Chonkar PK, Suribabu K, Singh AK (2005). Long term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal contents in soil, crops and ground water—a case study. *Agriculture Ecosystems Environment*, 109: 310–322.
- Rauser WE (1999). The structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biology Biophysics*, 31: 19–48.
- RBBM (2011). Monitoreo de Avifauna en la laguna de Metztitlán y bosque de sabino (*Juniperus flaccida*) en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo. Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Consultado el 02 de marzo del 2015. Disponible en: <http://www.conanp.gob.mx/acciones/fichas/meztitlan/info/info.pdf>
- Reddi AR, Jensen LT, Culotta VC (2009). Manganese homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemical Review*, 109: 4722–4732.
- Reimann C, Arnolddussen A, Finne TE, Koller F, Nordgulen Ø, Englmaier P (2007). Element contents in mountain birch leaves, bark, and wood under different anthropogenic and geogenic conditions. *Applied Geochemistry*, 22: 1549–1566.

- Rengel Z (2001). Xylem and phloem transport of micronutrients. In: Horst WJ et al. (Eds). Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 628-629.
- Rockwood DL, Naidu CV, Carter DR, Rahmani M, Spriggs TA, Lin C, Alker GR, Isebrands JG, Segrest SA (2004). Short rotation woody crops and phytoremediation: Opportunities for agroforestry. *Agroforestry System*, 61: 51–63.
- Rodela AA, Reis TC, Packer AP (2002). Especificação do níquel adicionado ao solo por NiCl₂ e biossólidos. (Compact disc). In: Reunião Brasileira De Fertilidade Do Solo E Nutrição De Plantas, 25., Rio de Janeiro, 2002. Resumos. Rio de Janeiro: SBCS.
- Romeiro S, Lagôa AMMA, Furlani PR, de Abreu CA, de Abreu MF, Erismann NM (2006). Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 18(4): 483-489.
- Roque-Rossel J, Mosselmans JFW, Proenza JA, Labrador M, Gali S, Atkinson KD, Quinn PD (2010). Sorption of Ni by "lithiophoriteasbolane" intermediates in Moa Bay lateritic deposits, eastern Cuba. *Chemical Geology*, 275: 9-18.
- Rueter JG, O'Reilly KT, Petersen RR (1987). Indirect aluminum toxicity to the green alga *Scenedesmus* through increased cupric ion activity. *Environmental Science Technology*, 21: 35-438.
- Ruiz Olivares A, Carrillo-González R, González-Chávez MCA, Soto Hernández RM (2013). Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management*, 114: 316-323.
- Ryan PR, Delhaize E, Jones DL (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 52: 527–560.

- Sadi B, Wrobel K, Wrobel K, Kannamkumarath S, Castillo J, Caruso J (2002). SEC-ICP-MS studies for elements binding to different molecular weight fractions of humic substances in compost extract obtained from urban solid waste. *Environmental Monitoring*, 4: 1010-1016.
- Sajwan KS, Ornes WH, Youngblood TV, Alva AK (1996). Uptake of soil Applied cadmium, nickel and selenium by bush beans. *Water, Air and Soil Pollution*, 91: 209-217.
- Salt DE, Prince RC, Pickering IJ (1995). Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard *Journal of Plant Physiology*, 109: 1427–1433.
- Sandrin TR y Hoffman DR (2007). Bioremediation of organic and metal contaminated environments: effects of metal toxicity, speciation, and bioavailability on biodegradation. *Environmental Bioremediation Technologies*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 1-34.
- Santos NAV, Magriotis ZM, Saczk AA, Fássio GTA, Vieira SS (2015). Kinetic study of pyrolysis of castor beans (*Ricinus communis* L.) presscake: an alternative use for solid waste arising from the biodiesel production, *Energy Fuels*, 29(4): 2351-2357.
- Santos GCG y Rodella AA (2007). Effect of sources of organic matter in the alleviation of the toxic effects of B, Zn, Cu, Mn and Pb to *Brassica Juncea*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31: 793–804 (in Portuguese, with English abstract).
- Sauvé S, Manna S, Turmel MC, Roy AG, Courchesne F (2003). Solid-solution partitioning of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in the organic horizons of a forest soil. *Environmental Science Technology*, 37: 5191-5196.
- Scharpenseel HW, Eichwald E, Hauptenthal Ch, Neue HU (1983). Zinc deficiency in a soil toposequence grown to rice at Tiaong, Quezon Province, Philippines, *Catena*, 10: 115-132.

- Scheidegger AM, Fendorf M, Sparks DL (1996). Mechanism of nickel sorption on pyrophyllite: macroscopic and microscopic approaches. *Soil Science Society of America Journal*, 60: 1763-1772.
- Schmidt U (2003). Enhancing Phytoextraction: The effects of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *Journal Environmental Quality*, 32: 1939-1954.
- Schnitzer M y Kerndorff H (1981). Reactions of fulvic acids with metal ions. *Water, Air, and Soil Pollution*, 15: 97–108.
- Schnitzer M y Khan SU (1972). *Humic Substances in the Environment*. Marcel Dekker. Nueva York, US, 327 p.
- Schulthess CP y Huang CP (1990). Adsorption of heavy metals by silicon and aluminum oxide surfaces on clay minerals. *Soil Science Society of America Journal*, 54: 679-688.
- SEMARNAP (1999). Documento técnico justificativo para la creación de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo. Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. 298 p.
- Shahandeh H y Hossner LR (2000). Enhancement of Cr(III) phytoaccumulation. *International Journal Phytoremediation*, 2: 269 – 86.
- Shanker AK, Cervantes C, Loza-Tavera H, Avudainayagam S (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31: 739–753.
- Sharma A y Dhiman A (2013). Nickel and cadmium toxicity in plants. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 2: 20-24.
- Sharma P y Dubey RS (2005). Lead Toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 35-52.
- Shen ZG y Liu YL (1998). Progress in the study of the plants that hyperaccumulate heavy metal. *Plant Physiological Communities*, 34: 133-139.

- Shen ZG, Li XD, Wang CC, Chen HM, Chua H (2002). Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*, 31: 1893-1900.
- Shuman LM (1975). The effect of soil properties on zinc adsorption by soils. *Soil Science Society of America Proceedings*. 39: 454-458.
- Shuman LM (1999). Organic waste amendments effect on zinc fractions of two soils. *Journal Environmental Quality*, 28: 1442–1447.
- Sims JT y Kline JS (1991). Chemical fractionation and uptake of heavy metals in soils amended with co-composted sewage sludge. *Journal Environmental Quality*, 20: 387-395.
- Singer AC, Bell T, Heywood CA, Smith JAC, Thompson IP (2007). Phytoremediation of mixed-contaminated soil using the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*: evidence of histidine as a measure of phytoextractable nickel. *Environmental Pollution*, 147: 74–82.
- Singh OV, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, Jain RK (2003). Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology Biotechnology*, 61: 405-412.
- Singh R, Singh DP, Kumar N, Bhargava SK, Barman SC (2010). Accumulation and translocation of heavy metals in soil and plants from fly ash contaminated area. *Journal of Environmental Biology*, 31: 421–430.
- Sinha S, Gupta AK, Bhatt K (2007). Uptake and translocation of metals in fenugreek grown on soil amended with tannery sludge: involvement of antioxidants. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 67: 267-277.
- Smith LA, Means JL, Chen A, Alleman B, Chapman CC, Tixier JS, Jr Brauning SE, Gavaskar AR, Royer MD (1995). *Remedial Options for Metals-Contaminated Sites*, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 221 p.

- Soltan ME y Rashed MN (2003) Laboratory study on the survival of water hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. *Advances Environmental Restoration*, 7: 321–334.
- SPP (1992a). Síntesis geográfica del estado de Hidalgo. SECRETARÍA DE PROGRAMACIÓN Y PRESUPUESTO SPP, INEGI. Aguascalientes, Ags. 134 p.
- SPP (1992b). Carta estatal. Suelos. Estado de Hidalgo. Esc. 1: 500 000. SECRETARÍA DE PROGRAMACIÓN Y PRESUPUESTO SPP, INEGI.
- Srivastava S, Prakash S, Srivastava MM (1999). Chromium mobilization and plant availability - the impact of organic complexing agents. *Plant Soil*, 212: 203–208.
- Steinberg CEW (2003). *Ecology of Humic Substances in Freshwaters. Determinants from Geochemistry to Ecological Niches*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 432p.
- Stevenson FJ (1982). *Humus chemistry genesis, composition, reactions*. Wiley Interscience. Nueva York, US, 443 p.
- Stevenson FJ (1991). Organic matter-micronutrient reactions in soil. In: Mortvedt JJ, Cox FR, Shumam LM, Welch RM (Eds), *Micronutrients in agriculture*. Madison: SSSA, pp. 145-186.
- Stevenson FL y Cole MA (1999). *Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley & Sons, Inc., New York, US, 427p.
- Suavé S, Hendershot W, Allen HE (2000). Solid- solution partitioning of metals in contaminated soils: Dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science Technology*, 34(7): 1125–1131.
- Sun YB, Zhou QX, Ren LP (2007). Growth responses of *Rorippa globosa* and its accumulation characteristics of Cd and As under the Cd–As combined pollution. *Environmental Science*, 28: 1355–1360.
- Suresh B y Ravishankar GA (2004). Phytoremediation-A novel and promising approach for environmental clean-up. *Critical reviews in biotechnology*, 24: 97-124.

- Suthipradit S, Edwards DG, Asher CJ (1990). Effects of aluminium on tap-root elongation of soybean (*Glycine max*), cowpea (*Vigna unguiculata*) and green gram (*Vigna radiata*) grown in the presence of organic acids. *Plant Soil*, 124: 233-237.
- Suzuki M, T Tsukamoto, H Inoue, S Watanabe, S Matsubishi, M Takahashi (2008). Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants. *Plant Molecular Biology*, 66: 609-617.
- Tan KH (1993). *Principles of Soil Chemistry*. 2nd Edition. Marcel Dekker, New York, US, 362p.
- Tang L, Zeng G, Nourbakhsh F, Guoli L, Shen GL (2009). Artificial Neural Network Approach for Predicting Cation Exchange Capacity in Soil Based on Physico-Chemical Properties. *Environmental Engineering Science*, 26(1): 137-146.
- Taylor GJ, Crowder AA (1983a) Uptake and accumulation of heavy metals by *Typha latifolia* in wetlands of the Sudbury, Ontario region. *Canadian Journal of Botany* 61(1): 63–73.
- Taylor GJ, Crowder AA (1983b) Uptake and accumulation of heavy metals by *Typha latifolia* in wetlands of the Sudbury, Ontario region. *Canadian Journal of Botany*, 61(7): 1825–1830.
- Teorell T (1935). An Attempt to Formulate a Quantitative Theory of Membrane Permeability. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 33: 282-302.
- Tessier A, Campbell P, Bisson M (1980). Trace metal speciation in the Yamaska and St. Francois Rivers (Quebec). *Canadian Journal Earth Science*, 17: 90–105.
- Thiesen MO y Blincoe C (1988). Isolation and partial characterization of nickel complexes in higher plants. *Biological Trace Element Research*, 16:239-251.
- Tian SK, Lu LL, Yang XE, Webb SM, Du YH, Brown PH (2010). Spatial imaging and speciation of lead in the accumulator plant *Sedum alfredii* by microscopically

- focused synchrotron x-ray investigation. *Environmental Science and Technology*, 44: 5920–5926.
- Tiffin, L.O., 1971. Translocation of nickel xylem exudate of plants, *Plant Physiology*, 48: 273-277.
- Tu C y Ma LQ (2002). Effect of arsenic concentration and forms on arsenic uptake by hyperaccumulator Ladder Brake fern. *Journal Environmental Quality*, 31: 641–647.
- Turgut C, Pepe MK, Cutright TJ (2004). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution*, 131: 147–154.
- Turner MA y Rust RH (1971). Effects of chromium on growth and mineral nutrition of soybeans. *Soil Science Society of American Proceedings* 35: 755–758.
- Tye AM, Young S, Crout NMJ, Zhang H, Preston S, Zhao FJ, Mcgrath SP (2004). Speciation and solubility of Cu, Ni and Pb in contaminated soils. *European Journal of Soil Science*, 55: 579- 590.
- Uren NC (1992). Forms, reactions and availability of nickel in soils. *Advances in Agronomy*, 48: 141-203.
- US EPA (1986). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. EPA/630/R-00/004. Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, September 1986. Published: Federal Register 51, 33992-34003, September 24, 1986.
- Usman ARA (2008). The relative sorption characteristics of Pb, Cu, Zn, Cd and Ni by soils developed on shale in new Valley, Egypt. *Geoderma*, 144: 334-343.
- Vajpayee P, Tripathi RD, Rai UN, Ali MB, Singh SN (2000). Chromium accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content of *Nymphaea alba*. *Chemosphere* 41: 1075-1082.

- Valdez-Lazalde JR, Aguirre-Salado CA, Ángeles-Perez G (2011). Análisis de los cambios en el uso del suelo en la cuenca del río Metztlán (México) usando imágenes de satélite: 1985-2007. *Revista Chapingo* [online], 17: 313-324.
- Vassilev A, Schwitzguébel JP, Thewys T, Van der Lelie, Vangronsveld J (2004). The use of plants for remediation of metal-contaminated soils. *The Scientific World Journal*, 4: 9-34.
- Vega FA, Covelo EF, Andrade ML, Marcet P (2004). Relationship between heavy metals content and soil properties in mine soils. *Analytical Chemical Acta* 524: 141-150.
- Verkleij JAC, Golan-Goldhirst A, Antosiewicz DM, Schwitzguébel J-P, Schröder P, (2009). Dualities in plant tolerance to pollutants and their uptake and translocation to the upper plant parts. *Environmental and Experimental Botany* 67: 10-22.
- Verma S y Dubey RS (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164: 645-655.
- Vig K, Megharaj M, Senthunathan N, Naidu R (2003) Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances Environmental Restoration*, 8: 121–135.
- Vwioko DE, Anoliefo GO, Fashemi SD (2006). Metal Concentration in Plant Tissues of *Ricinus communis* L. (Castor Oil) Grown In Soil Contaminated With Spent Lubricating Oil. *Journal Applied Science Environmental Management*, 10: 127–134.
- Wacquant JP (1977). Physico-chemical selectivity for cations and CEC of grass roots. *Plant Soil*, 47: 257-262.
- Walkley A y Black IA (1947). An examination of the deghareff method for determining soil organic and a proposed modification of chromic acid titration method. *Soil Science*, 37:29–38.

- Wang AS, Angle JS, Chaney RL, Delorme TA, Reeves RD (2006). Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil*, 281: 325-333.
- Wang Q, Li Z, Cheng S, Wu Z (2010). Effects of humic acids on the phytoextraction of Cu and Cs from sediment by *Elodea nuttallii*. *Chemosphere* 7: 604–608.
- Wang S y Mulligan CN (2009). Rhamnolipid biosurfactant-enhanced soil flushing for removal of arsenic and heavy metals from mine tailings. *Process Biochemical*, 44: 296–301.
- Watanabe T, Osaki M, Yoshihara T, Tadano T (1998). Distribution and chemical speciation of aluminum in the Al accumulator plant, *Melastoma malabathricum* L. *Plant Soil*, 201: 165–173.
- Weis JS y Weis P (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30(5): 685-700.
- Weng L, Temminghoff EJM, Lofts S, Tipping E, Van Riemsdijk WH (2002). Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil. *Environmental Science and Technology*, 36: 4804-4810.
- Weng LP, Lexmond TM, Woltoorn A, Teminghoff EJM, Van Riemsdijk WH (2003). Phytotoxicity and bioavailability of nickel: chemical speciation and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22: 2180-2187.
- Weng LP, Lexmond TM, Woltoorn A, Teminghoff EJM, Van Riemsdijk WH (2004). Understanding the effects of soil characteristics on phytotoxicity and bioavailability of nickel using speciation models. *Environmental Science and Technology*, 38: 156-162.
- Wenzel WW, Unterbrunner R, Sommer P, Sacco P (2003). Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant and Soil*, 249: 83–96.
- Wikipedia (2015). http://es.wikipedia.org/wiki/Diferencias_entre_masa_y_peso

- Willey N (2007). Preface. In: Willey N (Ed), *Phytoremediation. Methods and reviews*. Humana Press, Inc, Totowa, US, pp. 5-7.
- Wu F, Zhang G, Dominy P (2003). Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environmental Experimental Botany*, 50:67-78.
- Wu FB, Dong J, Qian QQ, Zhang GP (2005). Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes. *Chemosphere*, 60: 1437–1446.
- Wyszkowski M y Wyszowska J (2003). Effect of soil contamination by copper on the content of macroelements in spring barley. *Polish Journal of Natural Science*, 14: 309-320.
- Yang XE, Long XX, Ye HB, He ZL, Calvert DV, Stoffella PJ (2004). Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). *Plant and Soil*, 259: 181-189.
- Yang ZM, Nian H, Sivaguru M, Tanakamaru S, Matsumoto H (2001). Characterization of aluminium-induced citrate secretion in aluminium-tolerant soybean (*Glycine max*) plants. *Physiologia Plantarum*, 113: 64-71.
- Yang. XE, Long XX, Ni WZ (2002). Physiological and molecular mechanisms of heavy metal uptake by hyperaccumulating plant species. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 80: 8–15.
- Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ (2006). Accumulation of Pb, Cu and Zn innative plants growing on a contaminated Florida site. *Science Total Environmental*, 368: 456–464.
- Yufera EP y Carrasco JMD (1973). *Química agrícola I, Suelos y fertilizantes*. Alambra. Madrid, España, 301-305 p.
- Zehra SA, Arshad M, Mahmood T, Waheed A (2009). Assessment of heavy metal accumulation and their translocation in plant species. *African Journal Biotechnology*, 8: 2802–2810.

- Zhao FJ, Hamon RE, Lombi E, Mclaughlin MJ, McGrath SP (2002). Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, 53: 535–543.
- Zhao K, Liu X, Xu J, Selim HM (2010). Heavy metal contaminations in a soil-rice system: identification of spatial dependence in relation to soil properties of paddy fields. *Journal Hazardous Materials*, 181: 778–787.
- Zhao LYL, Schulin R, Weng L y Nowack B (2007). Coupled mobilization of dissolved organic matter and metals (Cu and Zn) in soil columns. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71: 3407-3418.
- Zou Z, Qiu R, Zhang W, Dong H, Zhao Z, Zhang T, Wei X y Cai X (2009). The study of operating variables in soil washing with EDTA. *Environmental Pollution*, 15: 229-236.

8. ANEXOS

8.1. Acervo fotográfico



Figura 8. Aplicación de SH



Figura 8.1. Cosecha de las plantas



Figura 8.2. Planta con cepellón



Figura 8.3. Lavado de raíces

8.2. Análisis estadístico de los datos experimentales

8.2.1. Análisis estadístico de metales en plantas

Pruebas de los efectos inter-sujetos						
Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	cadmio	0 ^a	47	0		
	chromo	0 ^b	47	2.188E-6	1.007	0.490
	manganeso	0.001 ^c	47	1.586E-5	14.932	0
	níquel	0.001 ^d	47	1.833E-5	15.630	0
	plomo	0 ^e	47	6.118E-6	1.305	0.181
	zinc	0.014 ^f	47	0	8.545	0
	aluminio	0.061 ^g	47	0.001	6.700	0
Intersección	cadmio	0	1	0	.	.
	chromo	9.188E-6	1	9.188E-6	4.228	0.045
	manganeso	0.001	1	0.001	1207.757	0
	níquel	0	1	0	404.165	0
	plomo	0	1	0	97.523	0
	zinc	0.010	1	0.010	279.489	0
	aluminio	0.009	1	0.009	45.376	0
P	cadmio	0	2	0	.	.
	chromo	1.838E-5	2	9.188E-6	4.228	0.020
	manganeso	0	2	0	105.458	0
	níquel	0.001	2	0	310.820	0
	plomo	4.831E-5	2	2.415E-5	5.152	0.009
	zinc	0.012	2	0.006	172.708	0
	aluminio	0.014	2	0.007	36.936	0
AF	cadmio	0	3	0.000	.	.
	chromo	4.231E-6	3	1.410E-6	0.649	0.587
	manganeso	3.595E-6	3	1.198E-6	1.128	0.347
	níquel	1.584E-5	3	5.280E-6	4.502	0.007
	plomo	1.285E-5	3	4.282E-6	0.913	0.442
	zinc	7.305E-6	3	2.435E-6	0.068	0.977
	aluminio	0.003	3	0.001	4.936	0.005
OV	cadmio	0	3	0.000	.	.
	chromo	5.966E-6	3	1.989E-6	0.915	0.441
	manganeso	0	3	9.486E-5	89.324	0.000
	níquel	4.056E-6	3	1.352E-6	1.153	0.337
	plomo	2.018E-5	3	6.727E-6	1.435	0.244
	zinc	0	3	9.022E-5	2.511	0.070
	aluminio	0.008	3	0.003	13.431	0
P * AF	cadmio	0	6	0.000	.	.
	chromo	8.462E-6	6	1.410E-6	0.649	0.691
	manganeso	2.711E-5	6	4.518E-6	4.254	0.002
	níquel	2.687E-5	6	4.479E-6	3.819	0.003
	plomo	0	6	1.961E-5	4.183	0.002
	zinc	4.256E-5	6	7.094E-6	0.197	0.976
	aluminio	0.008	6	0.001	7.076	0
P * OV	cadmio	0	6	0.000	.	.
	chromo	1.193E-5	6	1.989E-6	0.915	0.492
	manganeso	8.008E-5	6	1.335E-5	12.568	0.000
	níquel	1.212E-5	6	2.021E-6	1.723	0.136
	plomo	2.208E-5	6	3.679E-6	0.785	0.586
	zinc	0	6	7.796E-5	2.170	0.062

	aluminio	0.018	6	0.003	15.246	0
AF * OV	cadmio	0	9	0	.	.
	cromo	1.796E-5	9	1.996E-6	0.918	0.518
	manganeso	3.449E-5	9	3.832E-6	3.608	0.002
	níquel	2.144E-5	9	2.382E-6	2.032	0.056
	plomo	1.637E-5	9	1.818E-6	0.388	0.935
	zinc	0	9	3.244E-5	0.903	0.530
	aluminio	0.004	9	0	2.319	0.029
P * AF * OV	cadmio	0	18	0	.	.
	cromo	3.593E-5	18	1.996E-6	0.918	0.562
	manganeso	9.148E-5	18	5.082E-6	4.786	0
	níquel	5.215E-5	18	2.897E-6	2.471	0.006
	plomo	5.013E-5	18	2.785E-6	0.594	0.886
	zinc	0.001	18	5.211E-5	1.451	0.152
	aluminio	0.006	18	0	1.731	0.066
Error	cadmio	0	48	0		
	cromo	0	48	2.173E-6		
	manganeso	5.097E-5	48	1.062E-6		
	níquel	5.628E-5	48	1.173E-6		
	plomo	0	48	4.688E-6		
	zinc	0.002	48	3.593E-5		
	aluminio	0.009	48	0		
Total	cadmio	0	96			
	cromo	0	96			
	manganeso	0.002	96			
	níquel	0.001	96			
	plomo	0.001	96			
	zinc	0.026	96			
	aluminio	0.080	96			
Total corregida	cadmio	0	95			
	cromo	0	95			
	manganeso	0.001	95			
	níquel	0.001	95			
	plomo	0.001	95			
	zinc	0.016	95			
	aluminio	0.071	95			

a. R cuadrado =. (R cuadrado corregida =.)

b. R cuadrado = .497 (R cuadrado corregida = 0.003)

c. R cuadrado = .936 (R cuadrado corregida = 0.873)

d. R cuadrado = .939 (R cuadrado corregida = 0.879)

e. R cuadrado = .561 (R cuadrado corregida = 0.131)

f. R cuadrado = .893 (R cuadrado corregida = 0.789)

g. R cuadrado = .868 (R cuadrado corregida = 0.738)

ANOVA AI (60 d)

Variable dependiente: Aluminio					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	.035 ^a	11	.003	11.589	.002
Intersección	.023	1	.023	84.744	.000
AF	.005	3	.002	6.494	.020
Org.	.019	3	.006	23.459	.000
AF * Org	.003	5	.001	2.472	.135
Error	.002	7	.000		
Total	.076	19			
Total corregida	.037	18			

a. R cuadrado = .948 (R cuadrado corregida = .866)

Aluminio				
	Ácidos Fúlvicos	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b,c}	0.00	4	.01289683	
	6.00	3	.03492064	.03492064
	4.00	5		.05619048
	2.00	7		.06043084
	Sig.		0.289	0.196
Scheffe ^{a,b,c}	0.00	4	.01289683	
	6.00	3	.03492064	.03492064
	4.00	5		.05619048
	2.00	7		.06043084
	Sig.		0.355	0.252

Análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés) para Cr

Variable dependiente: Cromo					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0 ^a	14	1.257E-5	90.285	0
Intersección	4.508E-5	1	4.508E-5	323.831	0
AF	3.459E-5	3	1.153E-5	82.824	0
Org	4.815E-5	3	1.605E-5	115.297	0
AF * Org	0	8	1.537E-5	110.438	0
Error	9.744E-7	7	1.392E-7		
Total	0	22			
Total corregida	0	21			

a. R cuadrado = .994 (R cuadrado corregida = .983)

Cromo				
	Ácidos Fúlvicos	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b,c}	4.00	6	0.00065620	
	6.00	4	0.00075483	
	2.00	8	0.00085145	
	0.00	4		0.00396135
	Sig.		0.838	1.000
Scheffe ^{a,b,c}	4.00	6	0.00065620	
	6.00	4	0.00075483	
	2.00	8	0.00085145	
	0.00	4		0.00396135
	Sig.		0.872	1.000

Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) para Mn, Ni, Pb y Zn

Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	Manganeso	0 ^a	32	1.534E-5	11.069	0
	Níquel	0 ^b	32	1.516E-5	6.112	0
	Plomo	0 ^c	32	8.261E-6	5.388	0
	Zinc	0.009 ^d	32	0	3.332	0.003
Intersección	Manganeso	0.001	1	0.001	366.402	0
	Níquel	0	1	0	105.731	0

	Plomo	0.001	1	0.001	416.059	0
	Zinc	0.005	1	0.005	54.811	0
Per	Manganeso	9.482E-5	2	4.741E-5	34.204	0
	Níquel	0	2	0	58.716	0
	Plomo	0	2	9.150E-5	59.681	0
	Zinc	0.005	2	.003	32.859	0
AF	Manganeso	1.066E-5	3	3.552E-6	2.563	0.084
	Níquel	1.631E-5	3	5.437E-6	2.193	0.121
	Plomo	1.653E-6	3	5.509E-7	0.359	0.783
	Zinc	1.994E-5	3	6.648E-6	0.081	0.970
Org	Manganeso	0	3	6.330E-5	45.670	0
	Níquel	2.910E-6	3	9.700E-7	0.391	0.761
	Plomo	5.183E-7	3	1.728E-7	0.113	0.952
	Zinc	0	3	3.940E-5	0.479	0.700
Per * AF	Manganeso	2.999E-6	4	7.497E-7	0.541	0.708
	Níquel	9.623E-6	4	2.406E-6	0.970	0.446
	Plomo	3.794E-6	4	9.486E-7	0.619	0.654
	Zinc	5.827E-5	4	1.457E-5	0.177	0.948
Per * Org	Manganeso	5.593E-5	5	1.119E-5	8.070	0
	Níquel	9.641E-6	5	1.928E-6	0.778	0.577
	Plomo	7.363E-6	5	1.473E-6	0.960	0.465
	Zinc	0	5	7.056E-5	0.858	0.526
AF * Org	Manganeso	9.758E-5	9	1.084E-5	7.823	0
	Níquel	2.945E-5	9	3.272E-6	1.319	0.288
	Plomo	1.354E-5	9	1.505E-6	0.981	0.484
	Zinc	0.001	9	8.950E-5	1.089	0.413
Per * AF * Org	Manganeso	4.294E-6	6	7.157E-7	0.516	0.789
	Níquel	2.484E-5	6	4.140E-6	1.670	0.180
	Plomo	7.488E-6	6	1.248E-6	0.814	0.572
	Zinc	0	6	4.558E-5	0.554	0.761
Error	Manganeso	2.772E-5	20	1.386E-6		
	Níquel	4.959E-5	20	2.480E-6		
	Plomo	3.066E-5	20	1.533E-6		
	Zinc	0.002	20	8.222E-5		
Total	Manganeso	0.002	53			
	Níquel	0.001	53			
	Plomo	0.001	53			
	Zinc	0.026	53			
Total corregida	Manganeso	0.001	52			
	Níquel	0.001	52			
	Plomo	0	52			
	Zinc	0.010	52			

a. R cuadrado = .947 (R cuadrado corregida = 0.861)
b. R cuadrado = .907 (R cuadrado corregida = 0.759)
c. R cuadrado = .896 (R cuadrado corregida = 0.730)
d. R cuadrado = .842 (R cuadrado corregida = 0.589)

Manganeso

	Periodo	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	180	8	0.00290936	
	120	13	0.00361245	

	60	32		0.00567527
	Sig.		0.305	1.000
Scheffe ^{a,b}	180	8	0.00290936	
	120	13	0.00361245	
	60	32		0.00567527
	Sig.		0.338	1.000

Níquel

	Periodo	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	120	13	0.00060491	
	180	8	0.00117441	
	60	32		0.00612019
	Sig.		0.636	1.000
Scheffe ^{a,b}	120	13	0.00060491	
	180	8	0.00117441	
	60	32		0.00612019
	Sig.		0.662	1.000

Plomo

	Periodo	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	60	32	0.00163954	
	120	13		0.00548578
	180	8		0.00631141
	Sig.		1.000	0.233
Scheffe ^{a,b}	60	32	0.00163954	
	120	13		0.00548578
	180	8		0.00631141
	Sig.		1.000	0.263

Níquel

	Ácidos fúlvicos	N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey ^{a,b,c}	6.00	13	0.00348615
	0	12	0.00353245
	2.00	15	0.00439101
	4.00	13	0.00457930
	Sig.		0.311
Scheffe ^{a,b,c}	6.00	13	0.00348615
	0	12	0.00353245
	2.00	15	0.00439101
	4.00	13	0.00457930
	Sig.		0.389

Plomo

	Ácidos fúlvicos	N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey ^{a,b,c}	6.00	13	0.00290102

	4.00	13	0.00300180
	0	12	0.00309844
	2.00	15	0.00402357
	Sig.		.125
Scheffe ^{a,b,c}	6.00	13	0.00290102
	4.00	13	0.00300180
	0	12	0.00309844
	2.00	15	0.00402357
	Sig.		0.179

Zinc			
	Ácidos Fúlvicos	N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey ^{a,b}	2.00	15	0.01568236
	4.00	13	0.01676306
	6.00	13	0.01788419
	0	12	0.01839645
	Sig.		0.868
Scheffe ^{a,b}	2.00	15	0.01568236
	4.00	13	0.01676306
	6.00	13	0.01788419
	0	12	0.01839645
	Sig.		0.897

Manganeso				
	Órgano de la planta	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	tallos	16	0.00223836	
	peciolo	13	0.00320682	
	raíz	9		0.00656351
	hoja	15		0.00768475
	Sig.		0.198	0.111
Scheffe ^{a,b}	tallos	16	0.00223836	
	peciolo	13	0.00320682	
	raíz	9		0.00656351
	hoja	15		0.00768475
	Sig.		0.266	0.161

Níquel				
	Órgano de la planta	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	tallos	16	0.00332815	
	peciolo	13	0.00351355	
	hoja	15	0.00391864	
	raíz	9		0.00615546
	Sig.		0.783	1.000
Scheffe ^{a,b}	tallos	16	0.00332815	
	peciolo	13	0.00351355	
	hoja	15	0.00391864	
	raíz	9		0.00615546
	Sig.		.828	1.000

Plomo				
	Órgano de la planta	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	raíz	9	0.00212022	
	peciolo	13	0.00327878	0.00327878
	hoja	15	0.00345167	0.00345167
	tallo	16		0.00379940
	Sig.		0.061	0.719
Scheffe ^{a,b}	raíz	9	0.00212022	
	peciolo	13	0.00327878	0.00327878
	hoja	15	0.00345167	0.00345167
	tallo	16		0.00379940
	Sig.		0.095	0.774

Zinc				
	Órgano de la planta	N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey ^{a,b}	hoja	15	0.01369876	
	peciolo	13	0.01376056	
	tallo	16	0.01654522	
	raíz	9		0.02859055
	Sig.		0.859	1.000
Scheffe ^{a,b}	hoja	15	0.01369876	
	peciolo	13	0.01376056	
	tallo	16	0.01654522	
	raíz	9		0.02859055
	Sig.		0.890	1.000

b. Análisis estadístico metales en suelo

Pruebas de los efectos inter-sujetos						
Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	Aluminio	0.061 ^a	47	0.001	6.702	0
	Cromo	0.000 ^b	47	2.192E-6	1.005	0.492
	Manganeso	0.001 ^c	47	1.586E-5	14.681	0
	Níquel	0.001 ^d	47	1.833E-5	15.840	0
	Plomo	0.000 ^e	47	5.983E-6	1.291	0.191
	Zinc	0.014 ^f	47	0	8.522	0
Intersección	Aluminio	0.009	1	0.009	45.381	0
	Cromo	9.135E-6	1	9.135E-6	4.191	0.046
	Manganeso	0.001	1	0.001	1186.864	0
	Níquel	0	1	0.000	409.794	0
	Plomo	0	1	0	100.195	0
	Zinc	0.010	1	0.010	278.786	0
Org	Aluminio	0.008	3	0.003	13.436	0
	Cromo	6.011E-6	3	2.004E-6	0.919	0.439
	Manganeso	0.000	3	9.483E-5	87.798	0
	Níquel	3.987E-6	3	1.329E-6	1.148	0.339
	Plomo	1.769E-5	3	5.897E-6	1.272	0.295
	Zinc	0	3	9.057E-5	2.514	0.069
AF	Aluminio	0.003	3	0.001	4.937	0.005
	Cromo	4.286E-6	3	1.429E-6	0.655	0.584

	Manganeso	3.494E-6	3	1.165E-6	1.078	0.367
	Níquel	1.596E-5	3	5.319E-6	4.596	0.007
	Plomo	1.318E-5	3	4.394E-6	0.948	0.425
	Zinc	7.567E-6	3	2.522E-6	0.070	0.976
Per	Aluminio	0.014	2	0.007	36.943	0
	Cromo	1.827E-5	2	9.135E-6	4.191	0.021
	Manganeso	0	2	0	103.649	0
	Níquel	0.001	2	0	314.986	0
	Plomo	4.739E-5	2	2.369E-5	5.111	0.010
	Zinc	0.012	2	0.006	172.243	0
Org * AF	Aluminio	0.004	9	0	2.319	0.029
	Cromo	1.795E-5	9	1.994E-6	0.915	0.520
	Manganeso	3.412E-5	9	3.791E-6	3.510	0.002
	Níquel	2.160E-5	9	2.400E-6	2.073	0.051
	Plomo	1.456E-5	9	1.617E-6	0.349	0.953
	Zinc	0	9	3.229E-5	0.896	0.536
Org * Per	Aluminio	0.018	6	0.003	15.252	0
	Cromo	1.202E-5	6	2.004E-6	0.919	0.490
	Manganeso	8.028E-5	6	1.338E-5	12.387	0
	Níquel	1.194E-5	6	1.990E-6	1.719	0.137
	Plomo	1.906E-5	6	3.177E-6	0.685	0.662
	Zinc	0	6	7.809E-5	2.168	0.063
AF * Per	Aluminio	0.008	6	.001	7.075	0
	Cromo	8.571E-6	6	1.429E-6	0.655	0.686
	Manganeso	2.726E-5	6	4.543E-6	4.206	0.002
	Níquel	2.671E-5	6	4.452E-6	3.847	0.003
	Plomo	0	6	2.038E-5	4.397	0.001
	Zinc	4.234E-5	6	7.056E-6	0.196	0.976
Org * AF * Per	Aluminio	0.006	18	.000	1.731	0.066
	Cromo	3.590E-5	18	1.994E-6	0.915	0.565
	Manganeso	9.175E-5	18	5.097E-6	4.719	0
	Níquel	5.235E-5	18	2.908E-6	2.513	0.006
	Plomo	4.701E-5	18	2.611E-6	0.563	0.908
	Zinc	0.001	18	5.212E-5	1.447	0.154
Error	Aluminio	0.009	48	.000		
	Cromo	0	48	2.180E-6		
	Manganeso	5.185E-5	48	1.080E-6		
	Níquel	5.556E-5	48	1.157E-6		
	Plomo	0	48	4.635E-6		
	Zinc	0.002	48	3.602E-5		
Total	Aluminio	0.080	96			
	Cromo	0	96			
	Manganeso	0.002	96			
	Níquel	0.001	96			
	Plomo	0.001	96			
	Zinc	0.026	96			

a. R cuadrado = .868 (R cuadrado corregida = 0.738)
b. R cuadrado = .496 (R cuadrado corregida = 0.003)
c. R cuadrado = .935 (R cuadrado corregida = 0.871)
d. R cuadrado = .939 (R cuadrado corregida = 0.880)
e. R cuadrado = .558 (R cuadrado corregida = 0.126)

8.3 Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

Los restos de las muestras de todo el suelo y plantas fueron depositadas en el almacén R.P.B.I. temporal de almacenamiento del Área Académica de Biología.

Los residuos de los análisis de metales pesados en el EAAF fueron depositados en el almacén temporal de residuos corrosivos, reactivos, explosivos, tóxicos e inflamables (CRETI) del Área Académica de Química, en dónde se mantendrán por un tiempo determinado hasta que la empresa contratada por la Universidad los recogerá para su disposición final.