

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Fitoextracción de Plomo de un Suelo Contaminado, Utilizando Especies Vegetales
con Diferente Densidad Estomática

Por:

OFELIA OROZCO PÉREZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Fitoextracción de Plomo de un Suelo Contaminado, Utilizando Especies Vegetales
con Diferente Densidad Estomática.

Por:

OFELIA OROZCO PÉREZ

Tesis

Presenta como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGIA

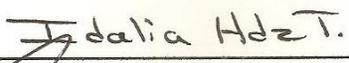
Aprobada


Dr. Manuel De La Rosa Ibarra

Asesor principal


Dr. Edmundo Peña Cervantes

Coasesor


M.C. Idalia María Hernández Torres

Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Junio del 2012

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICES DE CUADRO.....	vii
ÍNDICES DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Contaminación.....	4
Contaminación de suelo.....	6
Contaminación de suelo por metales pesados.....	7
Contaminación por plomo.....	9
Características del plomo.....	11
Fitorremediación.....	13
Fitoextracción.....	16

Transpiración en plantas.....	19
Plantas acumuladoras de metales pesados.....	20
Plantas acumuladoras de plomo.....	22
Características generales de quelatos.....	23
Uso de quelato como fitorremediación.....	24
Uso del quelato en los cultivos para la absorción de los nutrientes minerales.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
Descripción del área.....	32
Características del invernadero.....	32
Procedimiento.....	32
Características del suelo.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIÓN.....	45
LITERATURA CITADA.....	46

DEDICATORIAS

A dios por darme la sabiduría, la fortaleza para que fuera posible alcanzar este triunfo. Y la oportunidad de existir, por tener una familia a quien amar y darme la capacidad de ser útil a mis semejantes.

A mis padres *Antonio Orozco Torres y Cesarea Pérez Jiménez* porque creyeron en mi y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos y valores dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera.

A mis hermanos *Alicia, Clemencia, Luisa (+) Virginia (+) y Eliseo* gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida. Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles. Espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

A mis segundos padres *Guadalupe Pilar Ruiz Tapía y Filiberto Corzo Zebadua*, quienes creyeron siempre en mí, dándome consejos sabios de superación, valores y la motivación constante que me ha permitido ser una

persona de bien. El objetivo alcanzado también es de ustedes y la fuerza que me ayudo a conseguirlo fue su gran apoyo ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles durante mi formación profesional.

A mis cuñados *Guillermo M. y Samuel N.* por todo el apoyo brindado durante estos años de estudio.

A mis sobrinos, *Juan Antonio, Carlos Ismael, y Santiago.* Quienes siempre me recibieron con un abrazo sin pedir nada a cambio, por los momentos agradables que comparto con ustedes.

A mi amiga *Angélica Flores Hdez. (Angy)* quien siempre me apoyo y me brindo su amistad incondicional, gracias por tu linda amistad hemos pasado por momentos buenos y malos superándolo siempre, y gracias a ello nuestra amistad se ha consolidado esperando dure nuestra amistad de toda la vida aunque estemos lejos, siempre serás mi amiga.

AGRADECIMIENTOS

A la *Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"*, por abrirme las puertas y darme la oportunidad de realizar mi preparación profesional en esta institución.

Al *Dr. Manuel De La Rosa Ibarra*. Por haber confiado en mí, y darme la oportunidad de trabajar con él; por la paciencia, el apoyo, el ánimo y la confianza que me brindó pudo ser posible la realización de este trabajo y sin su ayuda no hubiese sido posible terminarlo. La disposición de su valioso tiempo que tubo en todo momento y por ser una gran persona a quien admiro y respeto.

Al *Dr. Edmundo Peña Cervantes*. Por darme la oportunidad de trabajar con él en este proyecto, por el apoyo y confianza brindado durante este trabajo de investigación.

A la *M.C. Idalia María Hernández Torres*, por su apoyo y participación en este trabajo de investigación.

A la laboratorista *Angélica* de Anatomía e Histología Vegetal, quien me brindó su apoyo incondicionalmente para realizar parte del trabajo de investigación en el laboratorio junto con ella, también sus sabios los consejos y tips que me proporciono.

A la laboratorista *Panchíta* de Fisiología Vegetal, por los buenos deseos y consejos que me brindo durante mi estancia en la Universidad, también por su amistad que siempre me ha brindado y su apoyo incondicional.

Gracias también a mis queridos amigos generación quienes de una u otra me permitieron entrar en su vida durante estos 5 años de convivir dentro y fuera del salón de clase. *Yesí, Eliza, Letí, Anabel, Gelmy, Angy, Lulu, Blanquíta, Efrén, Manolo, Jaime, Cheko, Tomas, J. Miguel, Fidel (shíde) Adrián Torres, Santos, Xóchitl, Ana rosa, Mary Cruz,* A todos ellos muchas gracias por todos esos momentos que vivimos ya sean buenos o malos pero gracias a eso ayudo a consolidar una grandiosa amistad.

A *Jesica Hdez. (Jessy)*, gracias por tu apoyo y amistad incondicional, y todos los momentos compartidos en el internado, por tus palabras de aliento y tus consejos.

A mi amigo *Evaristo Campos (Varo)*, quien me brindo su amistad incondicional, apoyándome en todo momento con sus palabras de motivación.

ÍNDICES DE CUADRO

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de diferentes elementos contaminantes en el suelo. (Tomado de SEMARNAT/SS1-2004).....	10
Cuadro 2. Características del suelo contaminado con plomo.....	39
Cuadro 3. Análisis de Varianza y comparación de medias del área total del envés, del haz y de la apertura total del ostiolo en las diez especies evaluadas.....	37
Cuadro 4. Comparación de medias entre las dos especies seleccionadas de acuerdo a la apertura total de transpiración alta y media.....	39
Cuadro 5. Análisis de varianza y comparación de medias de transpiración y acumulación de Pb en las estructuras de girasol y frijol.....	40

ÍNDICES DE FIGURA

Figura 1. Procesos implicados en la fitorremediación de suelos contaminados....	13
Figura 2. Proceso distinto que las utilizan las plantas para incorporar las sustancias contaminantes.....	15
Figura 3. Proceso general de Fito-extracción.....	18
Figura 4. Cuales son las propiedades de los Quelatos.....	24

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar la extracción de plomo de un suelo contaminado, utilizando plantas con diferente densidad estomática. El trabajo se realizó en uno de los invernaderos de Fitomejoramiento que se encuentran ubicados al lado del área de Fisiología Vegetal dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. En la primera fase del trabajo, se determinó la densidad estomática y apertura total estomática de diez especies vegetales. De las cuales se seleccionaron dos especies por su valor alto y bajo en esta variable. En la segunda fase, se utilizaron estas dos especies para desarrollarse en un suelo contaminado con plomo, en esta etapa se aplicó el quelato (EDTA) a una concentración de 500 ppm. También se midió la transpiración. En la tercera fase se midió la cantidad de plomo que la planta absorbió y fijo luego en las diferentes estructuras. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico con un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de AxBxC en tres repeticiones. El girasol presentó el valor más alto en el área apertura total del ostiolo con 6963.7 micras², el valor más alto en transpiración con 4.7 mmol H₂O m⁻²s⁻¹ y el valor mas bajo en acumulación de plomo con quelato 613.6 mg de Pb/Kg y sin quelato 312.0 mg de Pb/Kg. En frijol se observó el valor más bajo en el área total de del ostiolo con 4338.9 micras², el valor más bajo en transpiración con 2.0 mmol H₂O m⁻²s⁻¹ y el valor más alto en acumulación de plomo con quelato 721.1 mg de Pb/Kg y sin quelato 373.9 mg de Pb/Kg. Con estos resultados se concluye que en las especies vegetales utilizadas existe una relación inversamente proporcional entre la intensidad de transpiración y la acumulación total de plomo en la planta. Las especies variaron su capacidad de acumular plomo en sus estructuras evaluadas donde la captación de plomo se mostró directamente proporcional con los tratamientos con quelato.

Palabras clave: densidad estomática, apertura total estomática, plomo, quelato, transpiración.

INTRODUCCIÓN

La contaminación es un cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas del aire, la tierra o el agua, que puede afectar nocivamente la vida humana o la de especies beneficiosas, los procesos industriales, las condiciones de vida del ser humano y puede malgastar y deteriorar los recursos naturales renovables (Atilio, 2007).

Los metales pesados y en general los elementos traza, están presentes relativamente a bajas concentraciones ($<1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en la corteza terrestre, los suelos y las plantas. Los metales pesados antropogénicos derivan de residuos peligrosos, procedentes de actividades industriales, minería e industria agrícola, y residuos sólidos urbanos (Galán y Romero, 2008). Uno de los metales pesados es el plomo (Pb) que existe naturalmente en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos. El Pb no es biodegradable y persiste en el suelo, en el aire, en el agua y en los hogares (Valdés, 1999).

Una alternativa para la extracción de metales pesados en los diferentes tipos de suelos contaminados, es la fitorremediación que constituye el uso de plantas verdes y los microorganismos asociados a ellas, así como las enmiendas del suelo y técnicas agronómicas dirigidas a liberar, contener, o transformar los contaminantes del suelo (López, 1995). De la misma manera Delgadillo-López et al., (2011) menciona que la fitorremediación aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo.

Algunas investigaciones en *Nicotiana tabacum* y *Ricinus communis* mostraron que pueden acumular plomo a partir de suelos contaminados con 500 y 1000 mg de Pb kg⁻¹; donde acumularon la mayor cantidad de Pb en la materia seca total y en la parte aérea (Rodríguez et al., 2006). Ortiz et al., 2008, estudiaron la fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando *Amaranthus hybridus* L. y micorrizas, indicando que la concentración de Pb en hoja, tallo y raíz de *A. hybridus* L. tendió a incrementarse conforme aumentó su edad. Por otro lado, García 2011, demostró una diferencia altamente significativa en acumulación de Pb utilizando tres especies (lechuga, geranio y betabel) y encontró que la planta de geranio acumulo la mayor cantidad de plomo por planta 495.56 mg Pb/kg, el betabel acumulo 422.5 mg Pb/kg y finalmente la lechuga acumulo 335.00 mg Pb/kg.

La contaminación por metales pesados es hoy en día uno de los problemas ambientales más importantes; la evaluación y remediación de un suelo contaminado es uno de los principales retos ambientales, debido a que las actividades de la industria ocasionan graves daños, propiciando la erosión y contaminación del suelo con sales solubles de metales pesados lo cual resulta dañino para la salud del ser humano.

La fitorremediación es una alternativa de suelos contaminados con metales pesados, la cual reduce a niveles tolerables de metales pesados mediante el cultivo de plantas, por lo cual es necesario conocer la eficiencia de la especie para acumular metales en sus tejidos y su resistencia a diferentes concentraciones de contaminantes.

OBJETIVOS

Cuantificar la extracción de plomo de un suelo contaminado, utilizando plantas con diferente densidad estomática.

HIPOTESIS

La extracción de plomo por las plantas tendrá una mayor acumulación de acuerdo a la densidad estomática y la transpiración que presentan las plantas utilizadas en este estudio.

REVISIÓN DE LITERATURA

Contaminación

El crecimiento y desarrollo de la humanidad, en la búsqueda de un bienestar ha generado la emisión de diferentes sustancias tóxicas para los seres vivos, y como consecuencia ha provocado la contaminación de muchos componentes del ecosistema, como el agua, el aire y el suelo, los contaminantes pueden generarse o depositarse en cualquiera de esos tres elementos y moverse de un lugar a otro hasta llegar a la biota, donde ocasionan daños y por el que ingresan a las redes tróficas.

El término contaminación se refiere a la introducción o incremento anormal de sustancias que pueden ejercer efecto dañino sobre los organismos presentes en los ecosistemas. La contaminación puede ser de origen natural pero por lo general, esta relacionada con las actividades del hombre. Muchos contaminantes son bioacumulativos y sus efectos irreversibles se manifiestan a largo plazo, algunos de las cuales pueden ser transformados por los organismos vivos (biodegradables) y otras que son persistentes (no biodegradables). El tiempo de residencia del contaminante en el medio ambiente depende del elemento del ecosistema en el que se encuentre. Lo común de este problema es que la sociedad lo ignore y por tal motivo se les puede considerar como una epidemia

silenciosa, tal es el caso de la contaminación por los metales pesados, que muchos de los casos los daños que causan son tan severos y con ausencia de síntomas (Trinidad, 2006).

La contaminación es la presencia o incorporación al ambiente de sustancias o elementos tóxicos que son perjudiciales para el hombre o los ecosistemas (seres vivos). Existen diferentes tipos de contaminación, Los tipos de contaminación más importantes son los que afectan a los recursos naturales básicos: el aire, los suelos y el agua. Algunas de las alteraciones medioambientales más graves relacionadas con los fenómenos de contaminación son los escapes radiactivos, el smog, el efecto invernadero, la lluvia ácida, la destrucción de la capa de ozono, la eutrofización de las aguas o las mareas negras. Existen diferentes tipos de contaminación que dependen de determinados factores y que afectan distintamente a cada ambiente (Bermúdez, 2010).

La contaminación es un cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas del aire, la tierra o el agua, que puede afectar nocivamente la vida humana o la de especies beneficiosas, los procesos industriales, las condiciones de vida del ser humano y puede malgastar y deteriorar los recursos naturales renovables (Atilio, 2007).

Contaminación de suelo

EL suelo es la parte exterior de la corteza terrestre y está íntimamente vinculado con la vida y con las actividades del hombre; constituye un intermedio (interface) imprescindible entre la atmósfera y la hidrosfera. En la composición química del suelo intervienen los elementos geológicos del subsuelo, el aporte de los vientos, de las aguas y los residuos de la actividad de la vida orgánica. En él se producen procesos que lo mantienen en continua transformación. Está constituido por proporciones variables de arena, de arcilla, de limo y de materia orgánica (humus); la mayor proporción de uno u otro elemento define al suelo como: arenoso, areno-arcilloso, arcillo-arenoso, arcilloso, limoso, limo-arenoso, etc. La porosidad del suelo permite que penetren en él, aire, gases y agua. Un suelo se puede degradar al acumularse en él sustancias en niveles tales que repercuten negativamente en su comportamiento. Las sustancias, a esos niveles de concentración, se vuelven tóxicas para los organismos del suelo. Se trata pues de una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo (Atilio, 2007).

Un suelo contaminado es aquel que ha superado su capacidad de amortiguación para una o varias sustancias, y como consecuencia, pasa de actuar como un sistema protector a ser causa de problemas para el agua, la atmosfera y los organismos. Al mismo tiempo se modifican sus equilibrios biogeoquímicos y

aparecen cantidades anómalas de determinados componentes que originan modificaciones importantes en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Crosara, 2007)

Contaminación de suelo por metales pesados

La contaminación del suelo por metales pesados (MP) son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano. La expresión MP se usa para aludir de un modo no muy preciso a ciertos elementos metálicos, y también a algunos de sus compuestos, a los que se atribuye determinados efectos de contaminación ambiental, toxicidad y ecotoxicidad (Schinitman, 2004).

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

Los metales pesados constituyen un grupo cercano a los 40 elementos de la Tabla Periódica que tienen una densidad mayor o igual a 5 g/cm³. El rasgo distintivo de la fisiología de los metales pesados, es que aun cuando muchos de ellos son esenciales para el crecimiento como el K, Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Na, Zn y

Mo, se ha reportado que también tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Cañizares, 2000).

Los metales acumulados en la superficie del suelo se reducen lentamente mediante la lixiviación, el consumo por las plantas, la erosión y la deflación. El objetivo del estudio fue evaluar las concentraciones de Plomo (Pb), Cinc (Zn), Cadmio (Cd) y Arsénico (As) en diferentes profundidades de suelo afectado por presas de jales (Sosa *et al.*, 2006).

Los metales pesados se clasifican en dos grupos:

Oligoelementos o micronutrientes. Necesarios en pequeñas cantidades para los organismos, pero tóxicos una vez pasado cierto umbral. Incluyen Arsénico (As), Boro (B), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Manganeseo (Mn), Níquel (Ni), Selenio (Se) y Zinc (Zn).

Sin función biológica conocida. Son altamente tóxicos, e incluyen Bario (Ba), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Plomo (Pb), Antimonio (Sb) y Bismuto (Bi).

Los elementos pertenecientes a estos dos grupos también varían según autores.

Además, cuando se habla de metales pesados tampoco se especifica el estado del elemento, es decir, si se trata del elemento puro, o de algunos o la totalidad de sus diversos estados de oxidación (compuestos), que no presentan las mismas

propiedades físicas, químicas, tóxicas ni ecotóxicas. Su persistencia, acumulación progresiva y/o su transferencia a otros sistemas supone amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas (Navarro *et al.*, 2007).

Contaminación por plomo

La Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de marzo de 2007. Donde menciona los límites permisibles de plomo para uso agrícola es de 400 mg/kg^{-1} , mientras que para uso industrial las concentraciones límites permisibles es de 700 mg/kg^{-1} (cuadro 1). Los estudios encontrados por Andrés, (2009) donde las concentraciones de plomo en el suelo que se encontraron demostraron que la mayoría de los suelos en zonas aledañas a la industria Met-Mex Peñoles rebasa el límite máximo permisible (LMP) para uso agrícola es de 400 mg/kg^{-1} , mientras que para uso industrial las concentraciones límites permisibles es de 700 mg/kg^{-1} , según la norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de diferentes elementos contaminantes en el suelo. (Tomado de SEMARNAT/SS1-2004)

Contaminante	Uso agrícola/residencial /comercial (mg/kg)	Uso industrial (mg/kg)
Arsénico	5 400	67 000
Bario	150	1900
Berilio	37	450
Cadmio	280	510
Cromo Hexavalente	23	310
Mercurio	1 600	20 000
Níquel	390	5 100
Plata	400	800
Plomo	390	5 100
Selenio	5,2	67
Talio	78	1000
Vanadio	5 400	67 000

Como se mencionó anteriormente, Andrés (2009) en su investigación menciona que los resultados obtenidos fueron muy variados donde la concentraron encontrada de plomo fue de $1721.6 \text{ mg/kg}^{-1}$, $1959.8 \text{ mg/kg}^{-1}$ y la mayor fue de $2068.4 \text{ mg/kg}^{-1}$, esto demuestra que estos datos encontrados rebasó el límite máximo permisible para uso agrícola y residencial según la norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

García (2007), determina en su investigación de metales pesados en sedimentos del Río Nazas en el estado de Durango. En la primera etapa se observa que en el sitio León Guzmán se encontró la mayor concentración de plomo. (36.1 ppm).

Mientras que en la segunda etapa se encontró que el lugar con mas alto nivel de plomo fue el Cañón de Fernández con 54.5 ppm y un promedio para los sietes puntos de muestreo de 24.4571 ppm. Según las normas internacionales como lo son la EPA y Holanda la mayoría de los lugares se encuentran dentro de los límites máximos permisibles, para la EPA es de 50 ppm y para Holanda es de 85 ppm los límites permitidos, a excepción de la segunda etapa donde sobrepasa la norma establecida por EPA.

Características del plomo

El plomo se encuentra en forma natural en la corteza terrestre de un modo relativamente abundante. Fue uno de los primeros metales extraídos por el hombre, a partir de la galena ($Pb S$), la cerusita ($Pb CO_3$) y la anglesita ($Pb SO_4$).

El metal se produce primariamente por fundición del mineral. Los principales yacimientos de éste están en Australia, Canadá, Estados Unidos, y Unión Soviética. La producción mundial minera es de aproximadamente 3.300.000 ton/año; en América Latina se produce el 14% de este total, siendo los más importantes productores Perú (212.600 ton/año) y México (184.261 ton/año). La tendencia al incremento en la producción y el consumo de plomo en América Latina ha aumentado el riesgo de exposición y de daños en la salud de la población (Gómez *et al.*, 2001).

Sierra (2006), menciona que este elemento es una de las bases de la civilización tecnológica, ya que infinidad de industrias lo utilizan como materia prima o como componente básico de sus productos. Su intenso uso se debe a una serie de propiedades que lo hacen poco menos que imprescindible en algún tipo de industrias. Entre estas propiedades las más importantes son: densidad elevada, punto de fusión bajo, inercia química frente a los ácidos, ductilidad, muchas de sus sales son corrosivas y algunas de sus sales son fuertemente tóxicas. La contaminación natural por plomo es pequeña. La contaminación artificial, es decir aquella procedente de la actividad humana es grande. Dos son las principales fuentes: emisiones industriales (fundiciones de hierro, zinc, cobre, y plomo; fábricas de pinturas, cerámicas, cristalería, pólvoras y explosivos; combustión del carbón etc.) y emisiones producidas por los vehículos.

Debido a la alta concentración de plomo en suelos se busca la manera de extraer este metal en estos tipos de suelos, por medio de alternativas que no tengan un costo elevado, utilizando plantas que puedan descontaminar el suelo acumulando este metal en sus tejidos.

Alvares *et al.*, (2003) mencionan que la fitorremediación es una tecnología emergente que emplea a las plantas, en desiguales unidades de procesos y plantas de producción, campos contaminados de diversas maneras, para remediar el suelo, los sedimentos, aguas de superficie, y aguas subterráneas, que se encuentren contaminadas principalmente por: metales pesados, materia orgánica y radionucleotidos.

La fitorremediación se puede dividir en las siguientes áreas:

1.- Fitoextracción: utiliza la biomasa vegetal-extractiva para remediar suelos contaminados por metales pesados y algunos compuestos radiactivos.

2.- Rizofiltración: utilización de las raíces de las plantas para extraer los diferentes metales tóxicos o aceites que se puedan encontrar en aguas contaminadas ya sean superficiales o profundas. Se ha visto que esta técnica puede ser mejorada insertando microorganismos simbióticos específicos en la rizosfera de la planta.

3.- Fitoestabilización: las plantas se utilizan para eliminar la biodisponibilidad de los metales tóxicos del suelo para que así no puedan ser utilizados por otro tipo de plantas a las cuales puede resultar perjudiciales.

4.- Fitodegradación: Las plantas y microorganismos asociados se pueden utilizar para degradar los agentes contaminantes del suelo.

5.- Fitovolatilización: los agentes contaminantes absorbidos por las plantas son convertidos en sus fases volátiles (gases) y liberados a la atmósfera por los estomas.

6.- Fitoestimulación: las raíces de las plantas son capaces de estimular microorganismos los cuales van a degradar los agentes contaminantes de la rizosfera.

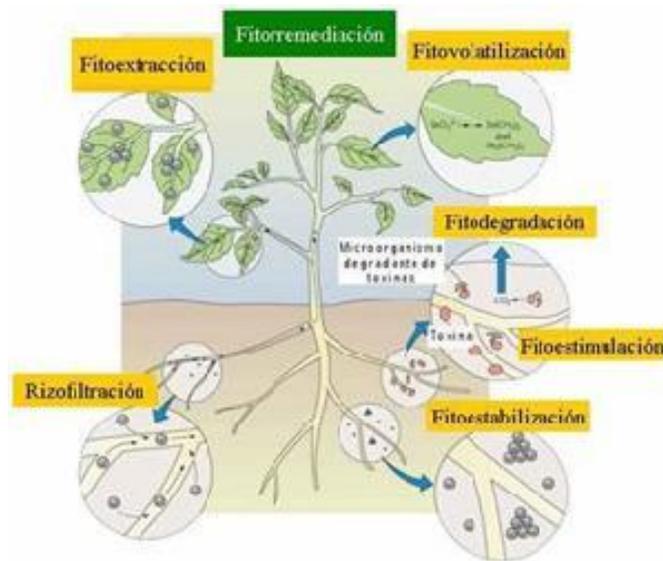


Figura 2. Proceso distinto que las plantas utilizan para incorporar las sustancias contaminantes

Fuente: ecoportal.net 2007

De las diferentes ramas de las cuales se ocupa la Fitorremediación la fitoextracción y la rizofiltración son las mas importantes ya se ocupa de la descontaminación de suelos que poseen metales pesados. Los metales pesados como por ejemplo: zinc, plomo, níquel, cromo, etc., constituyen uno de los problemas de mayor dificultad para solucionar, esto es debido a su naturaleza

inorgánica ya que esta no es susceptible a biodegradarse. La utilización de plantas para la extracción de metales pesados es debida a que estas pueden tener algún mecanismo de tolerancia o acumulación de estos.

Campos *et al.*, (2008), mencionan que la fitorremediación comprende un conjunto de tecnologías innovadoras de descontaminación ambiental, que trata de explotar la extraordinaria capacidad extractiva y metabólica de las plantas. Esta tecnología ofrece numerosas ventajas frente a los métodos tradicionales de descontaminación, incluida su amplia aplicabilidad y claros beneficios ecológicos y económicos. Aunque las plantas pueden transformar los contaminantes orgánicos en moléculas menos tóxicas, o incluso degradarlos por completo, las investigaciones en este campo se han centrado hasta ahora en los metales pesados.

Fitoextracción

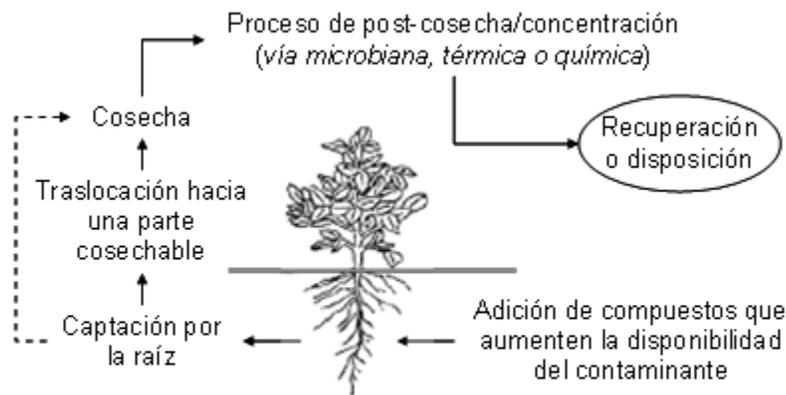
La fitoextracción, también llamada fitoacumulación, emplea la capacidad de las plantas para absorber y extraer el contaminante del suelo, principalmente metales, y acumularlo en sus tallos y hojas. Las partes de las plantas donde se acumula el contaminante pueden ser extraídas y destruidas o recicladas, retirando el metal del suelo (Kumar *et al.*, 1995).

La Fitoextracción se basa en el uso de plantas para remover contaminantes del suelo. Estas plantas acumuladoras son utilizadas para transportar y concentrar los contaminantes (metales u orgánicos) a partir del suelo, en el interior de los tallos y hojas, aunque en algunos casos las raíces pueden ser cosechadas como tal. Las plantas pueden acumular metales pesados esenciales para su crecimiento y desarrollo, tales como el Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo y posiblemente el Ni; asimismo algunas plantas tienen la capacidad de acumular otros metales pesados que no se conoce su función biológica, como el Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se y Hg; se caracteriza por su conveniencia técnica y económica en comparación a las prácticas tradicionales de ingeniería civil (Garbisu y Alkorta, 2001).

La fitoextracción inducida se puede considerar realmente otro tipo de prácticas agronómicas, ya que se basa en la adición al suelo de sustancias químicas quelantes capaces de solubilizar los metales y de provocar su absorción por plantas en crecimiento. La adición del quelato se produce cuando las plantas han desarrollado suficiente biomasa, induciendo la absorción y translocación del metal hacia la parte aérea, en donde son acumuladas hasta niveles tóxicos. (Huang *et al.*, 1997).

Según Chaney (1997), la Fito-remediación es una estrategia que se utiliza en una remediación de los suelos contaminados. Este proceso de descontaminación

involucra el empleo de plantas que pueden remover, transferir, estabilizar, descomponer y/o degradar contaminantes de suelo, sedimentos y agua, como solventes, plaguicidas, hidrocarburos poliaromaticos, metales pesados, explosivos, elementos radiactivos y fertilizantes, para hacerlos mas biodisponibles para la planta.



Fuente: Cunningham y Ow 1996.

Figura 3. Proceso general de Fito-extracción

Para que las plantas puedan realizar todas estas funciones de extraer, acumular y estabilizar los diferentes metales pesados que existen en el suelo, es necesario que lleve a cabo el proceso de la transpiración, donde al absorber el agua del suelo, también absorbe los iones minerales por medio de las raíces, pasando por el tejido vascular y saliendo por las hojas, a través de los estomas.

Transpiración en las plantas

La transpiración es un determinante primario del balance energético de la hoja y del estado hídrico de la planta. Este proceso comprende la evaporación del agua desde las células superficiales en el interior de los espacios intercelulares y su difusión fuera del tejido vegetal principalmente a través de los estomas y en menor medida a través de la cutícula y las lenticelas. Junto al intercambio de dióxido de carbono (CO_2), determina la eficiencia de uso del agua de una planta. El proceso de transpiración es conducido y regulado por los estomas que se ubican en la epidermis de las hojas y algunas otras estructuras aéreas. El aparato estomatal típico están conformado por dos células guardianas, un poro estomático y células subsidiarias. La apertura del poro estomático se logra por un aumento del turgor en las células guardianas. Para que esto ocurra, se requiere de la entrada de agua, la que es explicada por una disminución del potencial osmótico dentro de la célula causada por la entrada de K^+ . La salida de K^+ provoca una disminución en el turgor y el cierre estomático. Entre los beneficios de la transpiración se encuentran: a) ayuda a la absorción de minerales desde el suelo y el transporte dentro de la planta, b) mantiene una turgencia celular óptima, c) participa en la regulación de la temperatura foliar (Squeo y León, 2007).

Lallana (2003), menciona en un trabajo que la transpiración: es el caso especial de evaporación de agua, desde un tejido vivo hacia el exterior. Tal fenómeno puede tener lugar en cualquier parte del vegetal que esté expuesta al aire, pero son las hojas los órganos que lo realizan con mayor intensidad. Las vías de transpiración en la planta son:

1-Transpiración estomática: por los estomas; es una vía controlable por la planta y cuantitativamente representa alrededor del 90% del total de agua perdida.

2- Transpiración lenticelar: por las lenticelas.

3- Transpiración cuticular: por la cutícula.

Estas dos últimas vías no son controladas por la planta y cuantitativamente representan no más del 10% restante, pero adquieren fundamental importancia cuando los estomas se encuentran cerrados, por ej. Por deficiencia de agua. En hojas de plantas xerófitas (típicas de zonas áridas), que tienen una cutícula muy gruesa y a veces cubierta de ceras, la transpiración cuticular frecuentemente no supera el 1% del agua perdida por los estomas.

Plantas acumuladoras de metales pesados

Becerra *et al.*, (2007), menciona que las plantas metalofitas han desarrollado mecanismos biológicos que les permiten sobrevivir en suelos ricos en metales, tanto naturales (suelos serpentiniticos o ultramáficos) como antropogénicos. La

mayoría consigue su tolerancia restringiendo fisiológicamente la entrada de metales a las raíces y/o el transporte hacia las hojas. Algunas especies, sin embargo, presentan mecanismos extremadamente especializados que les permiten acumular o "hiperacumular" metales (como Cd, Co, Ni y Zn) en sus hojas, hasta alcanzar concentraciones superiores al 2% de su materia seca: son las denominadas "plantas hiperacumuladoras". Las hiperacumuladoras de Ni son mucho más numerosas que las de otros metales.

Ortega et al., (2008), reportan que actualmente se conocen alrededor de 400 especies de plantas hiperacumuladoras. Algunos ejemplos son: el girasol (*Helianthus annuus*) que es capaz de absorber en grandes cantidades el uranio depositado en el suelo por accidentes nucleares; *Arabidopsis thaliana*, una pequeña hierba que es la principal planta modelo para estudios en vegetales y es capaz de hiperacumular cobre y zinc. Otras plantas comunes que se han ensayado con éxito como posibles fitorremediadoras son la alfalfa, la mostaza, el tomate, la calabaza y el bambú. La *planta Amaranthus retroflexus* ha mostrado ser 40 veces más efectiva que sus competidoras en absorber cesio 137 que es radiactivo y es un peligroso contaminante por su capacidad de pasar a la leche de vaca y de ahí a la alimentación humana. *Amaranthus retroflexus* también resulta muy prometedora como hiperacumulador de plomo, un contaminante que resulta

muy difícil de absorber por los vegetales. Un helecho originario de Florida, el *Pteris vittata*, ha demostrado recientemente ser capaz de absorber el peligroso arsénico, siendo capaz de concentrarlo hasta 200 veces con respecto al suelo de donde lo toma.

Plantas acumuladoras de plomo

La fitorremediación se basa principalmente en las interacciones entre las plantas, el suelo y los microorganismos. Las plantas absorben el contaminante para metabolizarlo o almacenarlo, reduciendo o evitando la liberación de contaminantes en otras zonas del medio. Ortiz *et al.*, (2009) evaluaron la capacidad extractora de Pb y Cadmio en el quelite (*Amaranthus hybridus* L.) al adicionar una mezcla de micorrizas arbusculares. Los resultados indican que la adición de micorrizas incrementó significativamente la concentración de Pb y Cd en raíz, tallo y hoja de quelite.

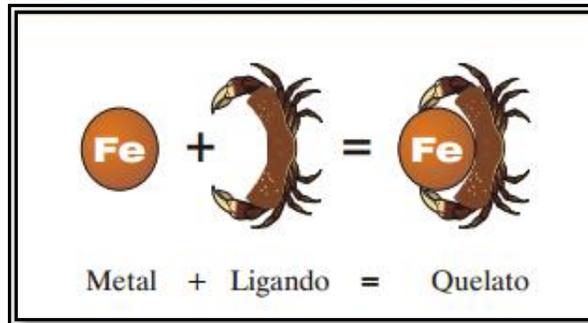
Para aumentar la extracción y una mejor concentración de metales pesados en las estructuras de las plantas, existen alternativas para solubilizar más eficazmente los iones que se encuentran en el suelo, esto es, aplicando agentes quelantes para que la planta pueda transportarlos desde la raíz hacia los tallos y hojas.

Características generales de quelatos

Calderón (1996) define la quelatación como la formación de complejos solubles de iones metálicos en presencia de agentes químicos que normalmente producirían precipitados en soluciones acuosas. El mismo término se utiliza para describir la solubilización en agua de precipitados de iones metálicos. Los dos procesos son idénticos en el sentido de que el mismo equilibrio se alcanza para el mismo conjunto dado de componentes. Los compuestos capaces de ligar iones metálicos de tal manera que ellos no exhiban sus reacciones normales en presencia de agentes precipitantes se conocen como agentes secuestradores o secuestrantes. El término secuestación se ha extendido en los últimos años para incluir aquellos sistemas en los cuales el agente secuestrante se usa para enmascarar la actividad química o biológica de un ion metálico en reacciones diferentes a los procesos de precipitación. Es importante enfatizar que la reacción de secuestación es frecuentemente parte de un proceso global en el cual se ha encontrado deseable incrementar o inhibir una reacción influenciada por un ión metálico, la cual tiene lugar independientemente de la reacción de coordinación, o para alterar la influencia de un ión metálico sobre la estabilidad de un producto o componente.

Propiedades de los quelatos: Cuando un ligando reemplaza las moléculas de agua y rodea un ión, las propiedades del ion metálico cambian. Puede haber un cambio

en el color, la solubilidad, o la reactividad química. Un buen ejemplo se da con el Cobre (+2) el cual usualmente precipita de su solución acuosa cuando el pH se sube a >6 usando Hidróxido de Sodio.



Fuente: ecoportal.net 2007

Figura 4. Cuales son las propiedades de los Quelatos

La secuestración pertenece al campo de la química de coordinación. Para entender los mecanismos involucrados en la ligazón de un ion metálico por un agente secuestrante (formación de quelatos metálicos), es necesario considerar los fundamentos de la formación de complejos metálicos en solución. La evaluación de este proceso esta asociada con el equilibrio iónico de soluciones acuosas tanto de electrolitos fuertes como débiles.

Uso de quelatos como fitorremediación

Debido a contaminantes tales como plomo (Pb) tienen una biodisponibilidad limitada en el suelo, un medio de solubilizar el Pb en el suelo y facilitar su transporte a los brotes de las plantas es vital para el éxito de

fitorremediación. Blaylock et al., (1997), demostraron la capacidad de las plantas para acumular altas concentraciones de Pb utilizando mostaza de la india (*Brassica juncea*) en suelo contaminado con plomo. La acumulación de Pb en el tejido corresponde a la concentración de Pb en el suelo y la concentración de EDTA (quelatos) añadida al suelo. La investigación indica que la acumulación de metal en los brotes de *B. juncea* puede mejorarse mediante la aplicación de quelatos sintéticos para el suelo, lo que facilita la acumulación de una mayor biomasa.

Hernández (2001), estudió el nivel de tolerancia al plomo en plantas de *Medicago sativa* L., *Avena Sativa* L., *Lillium multiflorum* Lam. y *Phaseolus vulgaris* L. a una concentración de 1000 y 5000 ppm Pb. estas mismas especies se sometieron a soluciones de 200, 600, 1200 y 2000 ppm de Pb disuelto con EDTA. La acumulación de Pb ocurre en forma proporcional con el contenido metálico en el sustrato. En cambio con EDTA el Pb es absorbido por la planta en una proporción mucho mayor. No obstante el Pb absorbido se acumula mayormente en las partes aéreas de la planta que en la raíz. Las especies de avena, alfalfa y frijol poseen una capacidad similar de acumular plomo.

Sierra (2006), trabajo con el pasto *Rye grass* como fitorremediador de un suelo contaminado con plomo. Al suelo que no se le agregó ningún acondicionador

(testigo), presentando mayor extracción de Pb (2438.89 $\mu\text{g/g}$). En general los tratamientos variaron entre 558.16 y 2438.89 $\mu\text{g/g}$ de Pb extraído lo que denota disponibilidad del Pb. Cuando se modificaron las características físicas del suelo por acción de los tratamientos, también se presentaron problemas en el desarrollo del cultivo, como lento crecimiento, estrés, quemaduras en las hojas y puntos de crecimiento; a pesar de esto, el cultivo logro extraer el plomo.

Todos los tratamientos en comparación con el suelo inicial, disminuyo el contenido de Pb en el suelo, lo anterior se debe a la absorción, lixiviación, y dilución del metal pesado. Los valores finales de Pb, sobrepasan los límites máximos permisibles para suelos contaminados, según el uso del suelo, en este caso industrial, cuyo límite máximo es de 750 mg/kg.

García (2011) demostró que en las especies vegetales utilizadas, existe una relación inversamente proporcional entre la densidad estomática y la transpiración con respecto a la acumulación de plomo en la planta. Así mismo se observó que la mayor acumulación de este metal se encentra en las raíces y las hojas por ser órganos propicios para la acumulación y en mucho menor medida en los tallos por ser un órgano de conducción.

Uso del quelato en los cultivos para la absorción de los nutrientes minerales.

La nutrición mineral de las plantas es un proceso extremadamente complejo, mediante el cual las plantas obtienen una parte de los elementos necesarios para vivir. La mayoría de las plantas capaces de crecer en tierras ricas en metales lo hacen excluyendo iones potencialmente tóxicos de sus sistemas de raíces. La habilidad de tolerar la presencia de metales pesados está determinada por el nivel de variación genética del individuo. Investigaciones realizadas por, Araiza *et al.*, (2005), menciona que la tendencia de captación tanto de plomo como de cromo es directamente proporcional a la concentración de los tratamientos utilizados en el sistema hidropónico y la zona preferente de acumulación de ambos metales es la raíz. En relación a la absorción de Pb y Cr por *Helianthus annuus L.* cultivado en un sistema hidropónico, se observa que las concentraciones de Pb encontradas en raíz fueron de 3200 ppm en el primer estadio y aproximadamente de 4000 ppm en el segundo. El cromo en raíz presentó las siguientes concentraciones, 23 ppm de cromo en el primer estadio y 21 ppm en el segundo estadio. En el contexto anterior, se aprecia que la raíz es la porción de planta que presenta mayor concentración de cromo. Pero también se observa que los tratamientos de mayor concentración son los que proporcionan

una concentración más alta del metal en tejido, esto también es válido tanto para plomo y para cromo.

Todas la plantas poseen una capacidad para absorber una amplia variedad de metales del suelo, pero la mayor parte de las plantas tienden solamente a absorber los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo (Chen y Cutright, 2001). Sin embargo (Trinidad, 2006) menciona en su investigación, que la adición de quelantes incrementa la disponibilidad de metales y favorece la fitoextracción. *Beta vulgaris*, posee un potencial de absorción de Pb relativamente bajo, cuyo valor fue de 62.36 mg Pb/kg de biomasa, sin embargo la adición de quelatos provoco incrementos altamente significativos en su capacidad de absorción de Pb, entre los quelatos aplicados el EDTA se observo como el mejor, ya que a medida que se incremento la concentración aplicada, incremento también significativamente la capacidad de absorción de Pb de la planta de *Beta vulgaris*, la aplicación de EDTA a 1600 ppm incremento su capacidad a 737.30 mg Pb/1g de biomasa, el EDTA a la misma concentración incremento el potencial de la planta a 647.10 mg Pb/1g de biomasa. Considerando al valor obtenido de la capacidad natural de absorción de Pb de la planta de *Beta vulgaris* como un 100%, el EDTA a 1600 ppm incremento esa capacidad a 1085%, el DTPA a la misma concentración lo incremento a 892%.

Los resultados experimentales hecho por (Aldrich *et al.*, 2010) demostraron las especies de plantas desérticas como el mezquite (*Prosopis spp.*) es capaz de acumular altos niveles de plomo en las raíces, la translocación a la parte aérea de la planta. Plántulas de mezquite a una semana de edad fueron tratadas durante 7 días en un cultivo hidropónico. Fueron seis tratamientos en donde se utilizaron tres tratamientos con plomo a 25 -, 50 -, y de 75 mg L⁻¹ y tres tratamientos que contenía los mismos niveles de Pb, pero con concentraciones equimolares de disodio etilendiamina tetraacético (EDTA). Estos resultados mostraron que las plantas expuestas a 25 -, 50 - y 75-mg de Pb L⁻¹ tratamientos sin EDTA se concentró en los tallos 524, 3726, y 1417 mg kg⁻¹, respectivamente. Sin embargo, las plantas tratadas con Pb-EDTA se concentró en los tallos 480 -, 607 -, y 1247-mg Pb/kg⁻¹, respectivamente. Los resultados de las raíces siguió una tendencia similar, sin EDTA los niveles de Pb variaron de 16.055, 89.935 y 63.396 mg kg⁻¹ y con EDTA estos niveles fueron 9.562, 49.902 y 39.181 mg kg⁻¹ para los tres tratamientos. Sin embargo, la adición de EDTA aumentó la acumulación de plomo en las hojas. Los niveles de plomo sin EDTA fueron 20, 35 y 51 mg kg⁻¹ y con los tratamientos con EDTA mostraron niveles de captación de 105, 124, y 313 mg Pb/kg⁻¹.

Por otro lado, Jarvis y Leung, (2001), mencionan en su investigación con plantas de *Chamaecytisus palmensis* que crecieron en un cultivo hidropónico y fueron expuestos a $Pb(NO_3)_2$, con y sin la adición de los agentes quelantes H-EDTA y EDTA, durante 1 semana. Posteriormente, la absorción de plomo se cuantificó en los materiales tratados por espectrometría de absorción atómica de llama. El tratamiento no quelado acumuló el plomo principalmente en el tejido de la raíz, mientras con quelado con EDTA o H-EDTA fue tomado principalmente por los brotes. Con microscopio electrónica de transmisión, se hicieron las observaciones ultraestructurales llevándose a cabo en secciones ultra-delgadas derivada de los tejidos de la especie *C. palmensis*. El plomo no quelado fue encontrado en las paredes celulares, bacteroides y en las mitocondrias en el tejido de la raíz de nódulos, y en la lamela media y los espacios intercelulares en tejidos de la raíz. En las raíces, el plomo quelado se encuentra en las mitocondrias, y en los tejidos de los brotes se encuentran en los cloroplastos, las membranas de pozo, y plasmodesmos.

(Huang *et al.*, 1997). Realizaron estudio sobre posibilidad de añadir quelatos de Pb a suelos contaminados para aumentar la acumulación de Pb en las plantas. La adición de quelatos a un suelo contaminado con plomo (Pb total del suelo de 2500 mg kg^{-1}) aumento de las concentraciones de Pb brotes de maíz (*Zea mays* L. cv.

Fiesta) y arveja (*Pisum sativum* L. cv. Sparkle) de menos de 500 mg kg⁻¹ a más de 10.000 mg kg⁻¹. El aumento de la acumulación de plomo en estas plantas se asoció con el aumento del nivel de plomo en la solución del suelo debido a la adición de quelatos al suelo. Para los quelatos probado, el orden de la eficacia en el aumento de Pb desorción desde el suelo era EDTA> HEDTA> DTPA> EGTA> EDDHA. También se encontró que el EDTA aumentó significativamente la translocación de plomo de las raíces a los brotes. Dentro de 24 horas después de la aplicación de solución de EDTA [1,0 g de EDTA (kg de suelo)⁻¹] para el suelo contaminado, la concentración de Pb en el maíz, la savia del xilema aumentó 140 veces, y la translocación Pb neto de las raíces a los brotes aumento de 120 veces en comparación para el control (sin EDTA). Estos resultados indican que los quelatos mejoran tanto la absorción del Pb del suelo, como la facilitación del transporte del Pb en el xilema y el aumento de la translocación de Pb de las raíces a los brotes. Los resultados de este estudio sugieren que con un manejo cuidadoso, la fitoextracción de Pb asistido por quelatos puede ser una estrategia costo-efectiva del suelo de descontaminación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área

El presente trabajo se realizó en uno de los invernaderos de fitomejoramiento que se encuentran ubicados al lado del área de Fisiología Vegetal dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas corresponden a los 25°23 de latitud norte y 101° 00 de longitud oeste y a una altura de 1742 msnm.

Características del invernadero

El invernadero cuenta con una estructura metálica con cubierta de policarbonato. Los soportes son de tubos de acero galvanizado y tienen una separación interior de 5m X 8m. La altura máxima del invernadero es de 5 m. En las bandas laterales se tiene una altura de 3,5 m. El ancho de esta nave es de 9 m. La ventilación es mediante extractores colocados en la entrada del invernadero estos ayudan a expulsar el aire más caliente, mientras que permiten entrar aire fresco proveniente de una pared húmeda.

Procedimiento

Este trabajo estuvo comprendido por tres fases donde en la primera de ellas se cultivaron diez especies (girasol, trueno, chile poblano, calabacita, melón, frijol, algodón, alfalfa, cilantro y maíz) de estas se tomaron algunas hojas de cada

especie para trabajar con ellas en el laboratorio llevando a cabo el estudio de la densidad estomática. Esta fase del trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Anatomía e Histología Vegetal del Departamento de Botánica. Se prepararon las muestras de donde se obtuvo la epidermis del haz y el envés de las hojas de las 10 especies, utilizando pegamento para cemento y cinta Scottch. En el haz de las hojas se puso una capa de pegamento que se dejó secar por un minuto, luego se corta un pedazo de cinta scocht se pega en donde está el pegamento en la hoja y se despega para posteriormente colocarlo en un portaobjetos y presionándolo fuerte para comprimir las burbujas que se presentaron.

Una vez preparadas y fijadas las muestras de epidermis, el conteo de estomas y la medición del ostiolo, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la misma universidad. Las muestras se observaron con ayuda de un microscopio Vistavision adaptado a una cámara Pixera, primero con el objetivo de 10x y posteriormente con el de 40x, se hizo el conteo de estomas por campo de visión, se tomó la microfotografía con el software Viewfinder y para realizar la medición del estoma se utilizo él programa Auxiovision Rel 4.5. Se capturaron los datos y se sometieron a un análisis de varianza utilizando un diseño experimental completamente al azar.

Luego del análisis de varianza realizado a estas mediciones, se decidió utilizar plantas de girasol y frijol por presentar valores altos y bajos respectivamente en su densidad estomática y área total de apertura del ostiolo, estas especies posteriormente se sembraron en el suelo contaminado con plomo, lo que consistió la segunda fase del trabajo.

Características del suelo

Antes de establecer el experimento se realizaron diversos análisis al suelo para su caracterización (Cuadro 1) los resultados muestran que este suelo presenta una concentración de 1200 mg kg^{-1} de plomo, y de acuerdo a los límites máximos permisibles establecidos por la SEMARNAT, para la regulación de sitios contaminados, no puede tener uso agrícola ni industrial. Por lo cual, puede ser utilizado para procesos de fitoextracción para su rehabilitación.

Cuadro 2. Características del suelo contaminado con plomo

CARACTERÍSTICAS	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
pH	7.6	Medianamente básico
Textura	44% arcilla, 30% limo y 26% arena	Arcilloso
Conductividad eléctrica	0.99 dS/m	No salino
Carbonatos totales	56.20%	Muy alto
Materia orgánica	5.20%	Muy alto
Plomo	1200 mg kg^{-1}	Contaminado

Fase II

En esta etapa del trabajo se utilizaron macetas que se llenaron con 5 Kg. de suelo contaminado con plomo, las cuales se etiquetaron con el tratamiento y el número de repetición correspondiente. Se sembró a una profundidad de un centímetro colocando de 2 a 3 semillas por cavidad, una vez realizado esto se le aplicó un riego ligero. Una vez que las plantas emergieron se le aplicó un riego cada 8 días debido a que el suelo era muy arcilloso y retenía mucho la humedad. En esta etapa de la planta se aplicó el quelato a una concentración de 500 ppm. Cuando las plantas tuvieron una altura aproximadamente de 25 cm de altura se procedió a medir la transpiración ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) con un porómetro Li-1600 (LI-COR, Inc.), esto se llevo a cabo a medio día cuando las hojas estaban totalmente expandidas y expuestas a la luz, se tomaron tres lecturas por cada tratamiento para luego someterlos a análisis de varianza y comparación de medias.

Fase III

En esta fase se midió la cantidad de plomo que la planta absorbió y fijo luego en las diferentes estructuras. Para realizar esto, se procedió a cosechar las plantas previamente desarrolladas en el suelo contaminado con plomo cortando las hojas, tallos y raíces. Todas las estructuras fueron colocadas en cajas de Petri para posteriormente secarlas en una estufa de secado de precisión modelo 18 EM, a

una temperatura de 60 °C por 12 horas, después de ese tiempo se pesaron en una balanza granataria TOR-REY modelo L-EQ. Se obtuvieron los datos de peso seco de cada estructura para posteriormente analizar la concentración de plomo.

El análisis del contenido de plomo en las estructuras de las dos especies se realizó en el Laboratorio de servicios generales del Departamento Ciencias del Suelos, utilizando el método de calcinación, usando ácido nítrico (HNO_3) para la recuperación de las cenizas. Posteriormente las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro de absorción atómica de la marca Varian. Lo anterior de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, la que regula la remediación de áreas contaminadas (SEMARNAT, 2007). Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico con un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de AXBXC con tres repeticiones, donde A representa las dos especies vegetales (girasol y frijol), B representa con o sin quelatos y C representa las tres estructuras de la planta (raíz, tallo y hoja).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del área total del ostiolo del envés mostraron una diferencia altamente significativa observándose una muy alta diversidad en los valores encontrados (Cuadro 3). Las plantas de algodón muestran el valor más alto para esta variable con un área del ostiolo de 4527.0 micras², mientras que el valor más bajo fue mostrado por la planta de alfalfa con 1033.7 micras².

Cuadro 3. Análisis de Varianza y comparación de medias del área total del envés, del haz y de la apertura total del ostiolo en las diez especies evaluadas.

Tratamientos	Área total del ostiolo del envés (micras ²)		Área total del ostiolo de haz (micras ²)		Área total de apertura de transpiración (micras ²)	
Alfalfa	1033.7	E	1458.4	C	2492.2	E
Algodón	4527.0	A	1913.3	BC	6440.3	AB
Calabaza	2284.5	DE	2593.8	AB	4878.3	BCD
Chile Poblano	4221.0	AB	1156.7	C	5377.7	ABCD
Frijol	3336.9	ABCD	1102.0	C	4438.9	CD
Girasol	4352.2	AB	2611.5	AB	6963.7	A
Maíz	3643.4	ABCD	2644.1	AB	6287.5	AB
Melón	3002.6	CD	2789.7	AB	5792.3	ABC
Tomate	2568.1	CD	1589.3	C	4157.5	CDE
Trueno	4007.8	ABCD	0.0	D	4007.8	D
C.V	36.07%		38.34%		28.31%	
	**		**		**	

+ Promedios seguidos de la misma letra, en las columnas, son estadísticamente iguales (Tukey, P=0.01).

C.V = Coeficiente de Variación

** = Diferencias Altamente Significativas (P=0.01).

Para la variable área total del ostiolo del haz, los resultados del análisis de varianza y comparación de medias también mostraron una diferencia altamente significativa, encontrando que la planta de melón logró el valor más alto en esta

variable con 2789.7 micras², mientras que la planta de frijol tuvo el valor más bajo con 1102.0 micras².

Con respecto a la variable área total de apertura del ostiolo, los resultados del análisis de varianza y comparación de medias, también mostraron una diferencia altamente significativa. La planta con el valor más alto para esta variable fue el girasol con un área total de 6963.7 micras² mientras que la planta con el valor más bajo fue la alfalfa con 2492.2 micras² y la planta con un valor medio fue el frijol con 4438.9 micras².

En base a los resultados de esta última variable, la planta de girasol y la de frijol, fueron seleccionadas para posteriormente ser utilizadas en la fitoextracción de plomo. Aunque existen especies con una mayor densidad estomática y con mayor área total de apertura del ostiolo, en este estudio la selección se hizo tomando en cuenta las diez especies descritas anteriormente. García (2011) encontró en un estudio realizado a tres especies, que el valor más alto del área total de apertura del ostiolo fue la lechuga con 44646.14 micras², el valor mas bajo el geranio con 14498.31 micras² y una planta de valor intermedio que fue el betabel con 2725.21 micras².

Ziehl (2010) menciona que las plantas que presentan un mayor número de estomas en el haz son llamadas epiestomáticas y aquellas que poseen un mayor número en el envés son hipoestomáticas como el caso de hortalizas. Aquellas que poseen un número aproximadamente igual de estomas en haz y envés son llamadas ambiestomáticas. Esta característica es susceptible de cambiar según la etapa de crecimiento o respuesta a estímulos ambientales.

La variable transpiración mostro una diferencia altamente significativa entre las dos especies evaluadas, donde la planta de girasol mostro que tiene mayor transpiración que el frijol (Cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación de medias entre las dos especies seleccionadas de acuerdo a la apertura total de transpiración alta y media.

Tratamientos	Área total de apertura de ostiolo (micras ²)	TRANSPIRACION (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
Girasol	6963.7 A	4.7 A
Frijol	4438.9 B	2.0 B
C.V	24.53% **	1.12% **

+ Promedios seguidos de la misma letra, en las columnas, son estadísticamente iguales (Tukey, p=0.01).

C.V = Coeficiente de Variación

** = Diferencias Altamente Significativas (Tukey, P=0.01)

También puede observarse que a mayor área total de apertura del ostiolo se tiene mayor transpiración. Estos resultados coinciden con los encontrados por García (2011), quien encontró esta misma relación en plantas de betabel, lechuga y geranio. Por otro lado, Squeo y León (2007), mencionan que la transpiración es un determinante primario del balance energético de la hoja y del estado hídrico de la planta. Este proceso comprende la evaporación del agua desde las células superficiales en el interior de los espacios intercelulares y su difusión fuera del tejido vegetal principalmente a través de los estomas y en menor medida a través de la cutícula y las lenticelas. Junto al intercambio de dióxido de carbono (CO₂), determina la eficiencia de uso del agua de una planta.

Los resultados del análisis de varianza y comparación de medias realizadas para la acumulación de plomo en tallo y hojas de girasol y frijol mostraron que existe una diferencia altamente significativa, mientras que en la variable raíz de las dos especies evaluadas no hubo diferencia significativa en la acumulación de plomo, aunque se muestran notables diferencias numéricas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis de varianza y comparación de medias de transpiración y acumulación de Pb en las estructuras de girasol y frijol.

Tratamientos	TRANSPIRACION mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	Acumulación de Pb en:			Total de acumulación de Pb/g/planta
		HOJA	TALLO	RAIZ	
GIRASOL C/QUELATOS	4.54 B	66.4	215.2	332.0	613.6
GIRASOL S/QUELATOS	4.77 A	33.9	90.2	187.9	312.0
FRIJOL C/QUELATOS	1.83 D	102.3	290.5	334.3	727.1
FRIJOL S/QUELATOS	2.02 C	32.03	38.1	303.7	373.9
C.V	1.02% **	44.06% **	83.89% **	39.36% NS	43.95% **

+ Promedios seguidos de la misma letra, en las columnas, son estadísticamente iguales (Tukey, p=0.01).

C.V. = Coeficiente de Variación

**, NS = Diferencias Altamente Significativas (p=0.01) y Diferencia no Significativa.

La planta de frijol tratada con quelato y sin quelato fue la especie que acumulo mayor cantidad de plomo en las tres estructuras evaluadas acumulando en el tratamiento con quelato de 727.1 mg Pb/kg y sin quelato 373.9 mg Pb/kg. En cambio, la planta de girasol mostró un total de acumulación de Pb con quelato de 613.6 mg Pb/kg y sin quelato 312.0 mg Pb/kg considerando las tres estructuras. De esta manera, ambas especies cuando fueron tratadas con quelatos incrementaron significativamente la acumulación total de plomo, donde el girasol aumentó hasta en un 96.6% y el frijol 94.4% en comparación con el plomo

acumulado en las respectivas plantas tratadas sin quelatos. Se observó una tendencia de mayor acumulación en la raíz, seguido por el tallo y por último la hoja, mientras que las que no fueron tratadas con quelatos mostraron una menor acumulación total de plomo, aunque exhibiendo la misma tendencia de acumulación en sus diferentes estructuras.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Rodríguez *et al.*, (2006) quienes evaluaron la capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos contaminados con este metal, y encontraron diferencias significativas en la acumulación de plomo entre las especies de *Cenchrus ciliaris*, *Helianthus annuus*, *Ricinus communis*, *Nicotiana tabacum*, *Sorghum sudanense* y *Brassica campestris* las cuales fueron evaluadas sin aplicación de quelatos.

Por otro lado, Salas (2007), menciona que es posible incrementar la biodisponibilidad de un contaminante metálico, como el Pb, a través del uso de ciertos agentes quelantes que pueden adicionarse al suelo. En este estudio se encontró que *Acacia farnesiana* y *D. viscosa* son especies que toleran concentraciones de Pb de hasta 500 mg/L, y que ambas tienen capacidad para acumular el metal en sus tejidos en concentraciones mayores a 1000 mg kg⁻¹ en presencia de EDTA aplicado a una concentración de 1 mM.

La acumulación de plomo en las tres estructuras analizadas en este estudio, también mostraron diferencias altamente significativas. En la raíz de las dos especies cultivadas en un suelo contaminado con este metal y con sus respectivos tratamientos de quelatos, fue donde se acumuló mayor cantidad de plomo, siendo el principal órgano acumulador de estas plantas. La planta de frijol con quelato acumuló en esta estructura 334.3 mg Pb/kg y sin quelato 303.7 mg Pb/kg,

mientras que el girasol tratado con quelato acumuló 332.0 mg Pb/kg y sin quelato solamente 187.9 mg Pb/kg.

El hecho de que haya mayor acumulación de plomo en las raíces que en otras partes de la planta se debe a que la mayoría de los iones de este metal se acumulan en la raíz al no poder atravesar la banda de Caspary y solo entran por una pequeña zona situada justo arriba de la zona meristemática, la cual es una zona en plena diferenciación celular donde aún no existe esa barrera. De esta manera también se explica que al agregar quelatos al suelo, estos permitan una mayor entrada y acumulación en todos los órganos de la planta, pero principalmente en la raíz ya que los mismos quelatos introducen a los iones de plomo por cualquier zona de la raíz aun encontrándose con la banda de Caspary, para luego ser transportados por toda la planta. Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los estudios encontrados por Araiza, *et al*, (2005) quienes demostraron que la acumulación de Pb por *Helianthus annuus* L. cultivado en un sistema hidropónico, se concentraron en su mayor parte en la raíz.

Por otro lado, García (2011) encontró en estudios realizados en tres especies, que la planta de betabel acumuló la mayor cantidad de plomo en la raíz con 300.00 mg Pb/kg mientras que la planta de geranio acumuló 291.50 mg Pb/kg y la planta de lechuga mostro un valor de 222.50 mg Pb/k.

En la variable tallo de las dos especies también se encontró una diferencia altamente significativa, la planta de frijol con quelato fue la que acumuló más plomo en esta estructura con 290.5 mg Pb/kg y sin quelato acumuló solamente 38.1 mg Pb/kg, mientras que el girasol con quelato en la estructura de tallo acumulo 215.2 mg Pb/kg y sin quelato registró una concentración de 90.2 mg

Pb/kg. Estos resultados son superiores a los encontrados por García (2011), donde el geranio acumulo 76.56 mg Pb/kg; la lechuga 27.50 mg Pb/kg y finalmente el betabel mostro el menor valor de acumulación de plomo con 22.50 mg Pb/kg. También existe el reporte de Maldonado *et al.*, (2002), quienes reportaron que las planta de *T. tubiformis* acumulo 8.05 mg Pb/kg en la estructura de tallo.

En la variable hoja de las dos especies nuevamente se encontró una diferencia altamente significativa siendo otra vez la planta de frijol con quelato la que acumuló mas plomo en esta estructura con 102.3 mg Pb/kg y sin quelato con 32.03 mg Pb/kg. Por otro lado, en la planta de girasol con quelato se acumuló más plomo en la hoja con 66.4 mg Pb/kg y sin quelato con 33.9 mg Pb/kg. Estos resultados fueron superiores por los encontrados por Rodríguez *et al.*, (2006) quienes mencionan que *Nicotiana tabacum* logro extraer 3.27mg Pb de los cuales 94% fue acumulada en la parte aérea de la planta. Por su parte *Ricinus communis* extrajo 6.79 mg Pb, los cuales 58% fue acumulada en la parte aérea de la planta. Por otro lado, García (2011), encontró que las hojas de geranio lograron acumular 127.50 mg Pb/Kg mientras que las hojas de betabel registraron una acumulación de 100.00 mg Pb/kg; así mismo las hojas de lechuga fueron las que presentaron el menor valor de acumulación de Pb con 85.00 mg Pb/kg.

Por otro lado, también se encontró una relación inversamente proporcional entre la intensidad de transpiración y la acumulación de plomo total en la planta para los tratamientos con quelatos y sin quelatos, de esta manera, a medida que la transpiración se incrementa, disminuye la acumulación de plomo y viceversa. Esto podría ser explicado debido a que el potencial hídrico de la planta disminuye por la

presencia de los nuevos solutos (iones de plomo recién ingresados a la planta) que han sido introducidos por los quelatos y que han reducido la cantidad de agua libre que pudiera ser utilizada para la transpiración. De esta manera, a medida que se añaden quelatos al suelo, la concentración de plomo aumenta por lo tanto el potencial hídrico se hace más negativo lo que resta agua libre disponible provocando que la transpiración sea menor. García (2011) encontró la misma relación inversa entre la transpiración y la acumulación de plomo en la planta, aunque su trabajo fue sin utilizar quelatos.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se concluye que en las especies vegetales utilizadas existe una relación inversamente proporcional entre la intensidad de transpiración y la acumulación total de plomo en la planta.

Las especies variaron su capacidad de acumular plomo en las estructuras evaluadas, donde la captación de plomo fue directamente proporcional de los tratamientos con quelatos (EDTA).

LITERATURA CITADA

- Aldrich, M.V., Ellzey, J.T., Peralta-Vides, J.R., González, J.H. y Gardea-Torresdey, J.L. 2010. Lead Uptake and the Effects of EDTA on Lead-Tissue Concentrations in the Desert Species Mesquite (*Prosopis spp.*). International Journal of Phytoremediation. 6 (3): 195-207.
- Álvares, A., Buendía, C. y García, C. 1998. Eliminación de contaminantes para las plantas. Fisiología Vegetal. Salamanca. 18pp.
- Andrés, C. 2009. Contaminación por plomo en suelos aledaños a Met-Mex Peñoles, Torreón, Coahuila. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. 39 pp.
- Araiza, J., Jáuregui, J. y Alfárez, M. 2005. Efecto de agentes quelantes sobre la dinámica de captación de Plomo y Cromo en plantas de Girasol (*Helianthus annuus L.*) cultivadas en un sistema hidropónico. XI congreso nacional de biotecnología y bioingeniería. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Ciudad Universitaria, Aguascalientes.
- Atilio de la Orden, E. 2007. Contaminación. Área Ecología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. 34pp.

Becerra-Castro, C., García-Lestón, M., Kidd, P.S. y Monterroso, C. 2007.

Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Santiago de Compostela. 16 (2): 26-43.

Bermúdez, M. 2010. Contaminación y turismo sostenible. 25pp.

Bernal, M.P., Clemente, R. Vazquez, S. y Walker, D.J. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 16 (2): 1-14.

Blaylock, M. J., Sal, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., y Raskin I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents". Environmental Science & Thecnology, 31: 860–865.

Campos, V.M., Merino, I., Casado, R., Pacios, L.F. y Gómez, L. 2008. Review. Phytoremediation of organic pollutants. Spanish Journal of Agricultural Research. 6 (Special issue), 38-47.

- Cañizares-Villanueva, R. O. 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42:131-143.
- Chaney, R. L., Malik, M., Li Y. M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J. S. y Baker, A. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr Opin Biotechnol*. 8 (3): 279-84.
- Chen, H. y Cutright, T. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*. Department of Civil Engineering, The University of Akron. 45 (1): 21-28.
- Crosara, A. 2007. El suelo y los problemas ambientales.
- De la Rosa, I. M. 2012. Comunicación personal. Departamento de botánica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, saltillo, Coahuila, México.
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C.A., Prieto-Gacía, F., Villagómez-Ibarra, J. R. y Acevedo-Sandoval, O. 2011. Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Hidalgo, México. 14: 597- 612.

Calderón. 1996. En que consisten los agentes quelantes y la quelatacion?

LABNEWS. Serie divulgativa No.6. Santa Fé de Bogotá, Colombia. 4p.

Galan, E. y Romero, A. 2008. Contaminación de suelo por metales pesados.

Revista de la sociedad Española de mineralogía. Facultad de química.

Universidad de Sevilla. 10: 48-60.

Garbuisu, C. y Alkorta, A. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based

technology for the removal of metals from the environment. Bioresource

Technology. 77 (3): 229-263.

García, E. L. 2011. Fitoextracción de plomo de un suelo contaminado, por plantas

con diferente densidad estomática. Tesis de licenciatura. Universidad

Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México.

65pp.

Gómez, F., Danatro, D., Laborde, A., López, B., Perona, D., Spontón, F.,

Tomasina, F. y Velázquez, V. 2001. Contaminación por plomo. Sindicato

Médico del Uruguay.

Hernández, J. L. 2001. Respuestas biológicas de plantas superiores a la

exposición de altas concentraciones de metales pesados. Tesis de

doctorado en ciencias biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León.
Ciudad Universitaria. 92 pp.

Huang, J.W., Chen, J., Berti, W. R. y Cunningham, S. D. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science & Technology*. 31 (3). 800-805.

Jarvis, M. D. y Leung, D. W. 2001. Chelated lead transportion *chamaecytisus proliferus* L. *proliferus* var. *palmensis*. (H. Christ): an ultrastructural study. *Plant Science*. 16 (3): 433-441.

Kumar, P., Dushenkov, V., Motto, H. y Raskin, I. 1995. Phytoextraction : the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology*. 29 (5): 132-138.

Lallana, V.H. y Lallana Ma. del C. 2003. Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal. Edición digital. 32-35.

López, A. 1995. Biorremediación y fitorremediación en suelos contaminados. Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. 70-100.

Lucho-Constantino, C.A., Álvares-Suárez, M., Beltrán-Hernández, R.I., Prieto-García, F. y Poggi-Varaldo, H.M. 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. *Environment International*. Department of Biotechnology and Bioengineering. Pachuca, State of Hidalgo, México. 313-323.

Maldonado, M. J., Amézquita, F., Mendoza, D., Sosa, L. E. y Cano, C. 2002. Biorremediación de metales de Jales mineros con la planta de *Tithonia tubiformis*. *Investigación y Ciencia*. IIBE de la Facultad de Química/Universidad de Guanajuato. 21-24.

Navarro-Aviñó, J.P., Aguilar-Alonso, I. y López-Moya, J.R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente* Departamento de Biología Vegetal. Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia. . 16 (2): 10-25.

Norma Oficial Mexicana Nom-147-Semarnat/ssa1-2004. Que establece los criterios para el muestreo, caracterización y determinación de las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico,

berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicado en el Diario oficial de la federación en 2007.

Ortega, A., González, J., Huerta, J. A., López, K. y Cárdenas, Y. 2008. Fitorremediación "Usar plantas para limpiar suelos contaminados". San Luis Potosí.

Ortiz-Cano, H. G., Trejo-Calzada, R., Valdez-Cepeda, R. D., Arreola-Ávila, J. G., Flores-Hernández, A. y López-Ariza, B. 2009. Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. Revista Chapingo Serie Horticultura 15(2): 161-168.

Rodríguez, O. J. C; Rodríguez, F. H; De Lira, R. G; Martínez, de la C. J; Lara, M. J. L. 2006. Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelo contaminado. Revista Fitotecnia Mexicana. 29(3): 239-245.

Salas, F. K. 2007. Selección *in vitro* de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 37 pp.

Schinitman, I. N. 2004. Master en Educación Ambiental. Auditor Ambiental. Bioquímico. Metales Pesados. Ambiente y Salud. Ecoportal.net.

- Sierra-Villagrana, R. 2006. Fitorremediación de un Suelo Contaminado con Plomo por Actividad Industrial. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 51pp.
- Sosa, M., Puga, S., Lebgue, T., Quintana, C. y Campos, A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la Industria minera. Ecología Aplicada. Departamento Académico de Biología. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. 5 (2):7pp.
- Squeo, F. A. y León, M. F. 2007. Transpiración. Fisiología Vegetal. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile. 3: 67-84.
- Trinidad, J. 2006. Uso de compuestos organicos y acelga (*Beta vulgaris* L. var. *cicla* (L.)) en la fitoextracción de plomo en un suelo contaminado. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena vista, Saltillo, Coahuila, México. 89pp.
- Valdés, F. 1999. La contaminacion por metales pesados en torreon, coahuila, mexico. En Defensa del Ambiente, A.C. Torreón, Coahuila. 46pp.
- Ziehl, E.C. 2010. Estimación del índice estomático y frecuencia estomática en *Simmondsia chinensis* y *Vitis vinífera*. Facultad de Ciencias Biología. Fisiología Vegetal. 4pp.