

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA



Casa abierta al tiempo

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

ESTUDIO DE LA ACUMULACIÓN DE PLOMO Y CADMIO POR
ASPHODELUS FISTULOSUS L. Y *BRASSICA JUNCEA* L. PARA
FITORREMEDIAJES

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

I.B.I. MIRIAM AZUCENA HERNÁNDEZ ZAMORA

DIRECTOR: DR. MARIANO GUTIÉRREZ ROJAS

México, D.F.

AGOSTO 2009.

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACYT y además cuenta con el apoyo del mismo consejo, con el No. De Registro 0471-O”

México D.F. a 4 de Agosto del 2009.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

**Estudio de la acumulación de plomo y cadmio en *Asphodelus fistulosus* L. y
Brassica juncea L. para fitorremediar jales**

Que presentó

I.B.I. Miriam Azucena Hernández Zamora

Comité Tutorial:

Director: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Asesor: Dra. Tania L. Volke Sepúlveda

Asesor: Dr. David M. Díaz Pontones

Jurado:

Presidente:

Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

Dr. Francisco Cruz Sosa

Secretario:

Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

Dra. Tania L. Volke Sepúlveda

Vocal:

Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

Dr. David M. Díaz Pontones

Vocal:

CINVESTAV Instituto Politécnico Nacional

Dra. Rosa O. Cañizares Villanueva

DEDICATORIA

A MIS PADRES: Juventino y Rita

Por todo su amor, apoyo y comprensión

A MIS HERMANOS: Bélen, Dalia, Francisco y Adrian

Por estar siempre a mi lado y por ocupar un lugar especial en mi corazón

A LA PERSONA QUE AMO: Ulises

Por caminar siempre a mi lado y darme ánimos para seguir adelante

A TODA MI FAMILIA.

Por su cariño, en especial a la memoria de mi tío Eduardo

A MIS MEJORES AMIGOS: Mayra, Laura, Marlet, Juanki y Aly

Por ser mis cómplices y estar en todos los momentos

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de este proyecto.

Al Dr. Mariano Gutiérrez por su apoyo incondicional y sus valiosas sugerencias. Gracias por ser mi guía y creer en mí.

Al Dr. David Díaz Pontones y a la Dra. Tania Volke Sepúlveda por su colaboración y apoyo en la realización de este proyecto.

A la Dra. Rosa Olivia Cañizares por sus valiosas observaciones y sugerencias durante la escritura de la tesis.

A los del CENICA: Antonio, Fabiola, Paulina y Martha por estar dispuestos a ayudarme siempre que lo necesitaba.

A la Dra. Gretchen Lapidus y a la Ing. Rosa Gonzaga por su apoyo desinteresado.

Al Dr. Ruben Becerril Fonseca por ser una excelente persona y por su gran amistad.

Al Dr. Francisco Perrino por su apoyo desinteresado y por estar siempre que lo necesito.

A la Lic. Violeta Luna por las facilidades otorgadas para la realización de todos los trámites.

A la M. en B. Areli Cruz por todo su cariño y por brindarme su amistad durante todo este tiempo.

Al Laboratorio de Residuos Sólidos: Pedro, Olivia, Asmaveth, Cinthya, Liliana, Guille, Ady, Víctor, Manuel, Amalia, Nancy, Gloria, César, Marianela, Daniel, Rosario y en especial a Bety, por brindarme su apoyo.

Al Laboratorio de Electroquímica: Bayardo, Carlos, Liz por su ayuda y apoyo técnico.

A Víctor del COLPOS por su ayuda en la parte experimental.

*“Nadie es tan insignificante para contribuir y
nadie es tan poderoso para lograrlo solo”*

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
1.1 La minería en México.....	8
1.2 Jales en México	11
1.2.1 <i>Jales en Tlaquiltenango, Morelos</i>	12
1.2.2 <i>Jales en Zimapán, Hidalgo</i>	14
1.3 Metales pesados y toxicidad.....	15
1.3.1 Plomo.....	16
1.3.2 Cadmio	17
1.4 Movilidad de los metales pesados en el suelo.....	19
1.5 Agentes quelantes	20
1.6 Tecnologías de remediación.....	21
1.7 Fitorremediación	22
1.7.1 Capacidad de las plantas para tolerar y acumular metales pesados.....	23
1.7.2 Estudios histoquímicos	25
1.7.3 Mecanismos de fitorremediación	26
1.7.4 Coeficiente de fitoextracción y factor de traslocación	28
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVOS	31
4.1 Objetivo general.....	31
4.2 Objetivos específicos.....	31
5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL GENERAL.....	32
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
6.1 Muestreo jales	33
6.2 Caracterización fisicoquímica de jales	34
6.3 Contenido total de elementos potencialmente tóxicos en jales.....	36
6.4 Extracción secuencial de plomo y cadmio en jales.....	37
6.5 Estudios para la selección de un agente quelante.....	38
6.6 Especies en estudio.....	38
6.6.1 <i>Pretratamiento de las semillas</i>	40
6.6.2 <i>Germinación y propagación de las plantas en cultivos in vitro</i>	41
6.6.3 <i>Propagación de plantas</i>	41
6.6.4 <i>Tasa máxima de crecimiento</i>	42

6.7	Acumulación de plomo y cadmio en tejidos vegetales.....	42
6.8	Estudios histológicos	43
6.9	Estimación de índices y coeficientes	44
6.9.1	<i>Índice de Tolerancia</i>	44
6.9.2	<i>Coficiente de fitoextracción y factor de translocación</i>	44
6.10	Análisis estadístico	44
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
7.1	Descripción de los sitios de estudio.....	45
7.1.1	<i>Zimapán, Hidalgo</i>	45
7.1.2	<i>Tlaquiltenango, Morelos</i>	46
7.2	Caracterización fisicoquímica de jales	46
7.2.1	<i>Contenido de elementos potencialmente tóxicos</i>	48
7.2.2	<i>Extracción secuencial de plomo y cadmio</i>	50
7.3	Selección de un agente quelante.....	52
7.4	Supervivencia de las plantas en diferentes tratamientos	55
7.5	Tasa máxima de crecimiento de las plantas en jales.....	56
7.6	Índice de tolerancia.....	57
7.7	Acumulación de plomo y cadmio en tejidos vegetales.....	58
7.7.1	<i>Coficiente de fitoextracción y factor de translocación para B. juncea</i>	63
7.7.2	<i>Coficiente de fitoextracción y factor de translocación para A. fistulosus</i>	64
7.8	Destino final del plomo en tejidos vegetales	66
8.	CONCLUSIONES	73
9.	RECOMENDACIONES.....	74
10.	LITERATURA CITADA	75

RESUMEN

La contaminación del suelo con metales pesados, como plomo, cadmio, níquel, cromo y zinc, se atribuyen a diferentes actividades humanas como el riego con aguas residuales, la disposición inadecuada de efluentes, la industria minera y de fundición, entre algunas otras. Así entonces el uso de especies vegetales como agentes descontaminantes representa una alternativa tecnológica importante y económica. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la acumulación y/o estabilización de plomo y cadmio por *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea*, para su uso potencial en la fitorremediación de jales procedentes de Tlaquiltenango, Morelos. Para cumplir con el objetivo, se realizó la caracterización fisicoquímica de los jales (pH, humedad, textura, capacidad de campo, capacidad de intercambio catiónico y espacio poroso) y la extracción secuencial del plomo y del cadmio disponibles en los mismos. La germinación de ambas especies se realizó en condiciones *in vitro*, en donde se observó su crecimiento y desarrollo durante un mes. Posteriormente, las plántulas obtenidas se trasplantaron a recipientes con una mezcla de agrolita-turba (1:1 p/p). Después de 30 días, las plantas se colocaron en recipientes de 1 kg con jales, en los cuales se ajustó la concentración inicial de plomo a 1 200, 2 500, 5 000, 6 200 y 7 100 mg Pb/kg de jal peso seco durante 60 días. Todos los experimentos se realizaron en condiciones controladas de luz y temperatura. Posteriormente, se cuantificó por espectrometría de absorción atómica (EAA) el plomo y cadmio. *B. juncea* acumuló hasta 1 698 mg Pb/kg planta peso seco y 153 mg Cd/Kg planta peso seco en la parte aérea, por lo que puede considerarse una especie hiperacumuladora de ambos metales. Por otro lado, *A. fistulosus* acumuló hasta 1 432 mg Pb/kg planta peso seco en la raíz y 850 mg Pb/kg planta peso seco en la parte aérea. Además acumuló 112 mg Cd/kg planta peso seco en la parte aérea por lo que puede considerarse una especie fitoestabilizadora de Pb e hiperacumuladora de Cd.

Los estudios histoquímicos confirmaron los resultados cuantitativos del contenido de metales en las raíces y la parte aérea. Los depósitos de plomo en los cortes histológicos de hojas de *B. juncea* se encontraron principalmente en los estomas, haz vascular, parénquima, epidermis y espacios apoplásticos. Los depósitos de plomo en la raíz de *A. fistulosus* se observaron en la corteza, mientras que en las hojas no se observó el metal.

La principal propuesta que se deriva de esta tesis es que mediante el cultivo de *A. fistulosus* se puede reducir el riesgo de la dispersión eólica de metales pesados, principalmente del plomo que se encuentra presente en los jales.

Palabras clave: fitorremediación, jales mineros, metales pesados

ABSTRACT

Soil contamination with heavy metals such as lead, cadmium, nickel, chromium and zinc, are attributed to various human activities such as irrigation with wastewater, improper disposal of effluents, the mining and smelting industry, including some others. Thus the use of plants as decontaminating agents represents an important economic alternative technology. The objective was to study the accumulation and/or stabilization of lead and cadmium by *Brassica juncea* and *Asphodelus fistulosus*, for utterly use in phytoremediation of tailings from Tlaquiltenango, Morelos. To carry out with the objective, physicochemical characterization of tailings (pH, moisture, texture, field capacity, cation exchange capacity and void space) and the sequential extraction of lead and cadmium available were evaluated. Germination of both species was carried out under in *vitro* cultures, where growth and healthy development were observed for over a month. Subsequently, plants were transplanted onto a medium containing perlite-peat moss (1:1 w/w). After 30 days the plants were transplanted to 1 kg new pots containing different proportions of tailings to obtain the following initial Pb concentrations: 1 200, 2 500, 5 000, 6 200 and 7 100 mg Pb kg⁻¹ for next 60 days. All experiments were performed under controlled conditions of light and temperature. Subsequently, lead and cadmium were quantified by atomic absorption spectroscopy (AAS); in shoots, *B. juncea* accumulated up to 1 698 mg Pb/kg dry weight in shoots and 153 mg Cd/kg dry weight in shoot. For this reason *B. juncea* can be considered a hyperaccumulator species of both metals. On the other hand, *A. fistulosus* accumulated up to 1 432 mg Pb/kg dry weight in roots and 850 mg Pb/kg dry weight in shoots. Furthermore accumulated 112 mg Cd/kg plant dry weight in shoots, for this reason it can be considered as a Pb excluder and Cd hyperaccumulator.

In addition histochemical studies confirmed the quantitative metals content in the roots and shoots; the deposition of lead in histological sections of shoots from *B. juncea* were mainly observed in the stomata, vascular system, parenchyma, epidermis and apoplastic spaces. Deposits of lead in the root of *A. fistulosus* were observed in the cortex, whereas in the leaves was not observed lead.

The main proposal that emerges from this work is that by cultivating *A. fistulosus* may reduce the risk of wind dispersal of heavy metals, particularly lead which is present in the tailings.

Key words: phytoremediation, mine tailings, heavy metals

INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados en el suelo se debe a los procesos naturales geológicos, minería, actividades industriales y agrícolas (Zhen-Guo *et al.*, 2002). Los procesos naturales incluyen minerales y metales provenientes de las rocas, desplazamiento de los contaminantes de la superficie hacia las capas profundas del suelo, deposición atmosférica de emisiones de la actividad volcánica y el transporte de polvos (Ernst *et al.*, 1998).

México se ha caracterizado históricamente por ser una potencia minera. La minería ha llegado a convertirse en una actividad de gran importancia en algunos estados de la República Mexicana, como Chihuahua, Michoacán, Zacatecas, Durango, Sonora, Coahuila, Guanajuato, San Luis Potosí, Hidalgo, Sinaloa, Colima y Jalisco. Debido al desarrollo y modernización en los procesos de extracción y procesamiento de los recursos minerales, la industria minera ha generado por más de 400 años una gran cantidad de residuos a lo largo de todo el país que contienen diversos materiales tóxicos a los que se expone el ser humano, la flora y fauna. Las principales fuentes contaminantes de la industria minera son el proceso primario de tratamiento de metales y la generación de residuos, denominados jales, que contienen concentraciones elevadas de elementos potencialmente tóxicos (EPT) como Cu, As, Pb, Cd y Zn que se relacionan con la geología del yacimiento. Los jales son generados durante los procesos de recuperación de metales a partir de minerales metalíferos después de moler las rocas que los contienen y mezclar las partículas que se forman con agua y pequeñas cantidades de reactivos químicos que facilitan la liberación de los metales. La mayoría de los jales se encuentra en forma de lodos o de una mezcla de materiales finos que, en cierta manera, se comporta como un suelo (Mejía *et al.*, 1999) debido a que contienen N, P y K. En México, cuando un suelo se encuentra contaminado por un metal peligroso como puede ser el Pb en concentraciones superiores a 400 mg/kg de suelo, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 establece que se deben de llevar a cabo acciones para recuperar estos suelos. De acuerdo con esta norma, el cadmio en el suelo se clasifica como peligroso cuando se encuentra en concentraciones mayores a 37 mg/kg de suelo.

Los tratamientos más comunes de descontaminación de suelos contaminados por metales pesados incluyen la fitorremediación, que es el uso de plantas para restaurar o estabilizar sitios contaminados, y aprovecha las habilidades naturales de las plantas para acumular, estabilizar y/o degradar sustancias orgánicas e inorgánicas. En general, la fitorremediación es más apropiada para sitios contaminados poco profundos, utilizando especies de plantas

nativas aclimatadas al lugar y a las condiciones ambientales. El uso de la vegetación en sitios contaminados reduce la exposición de los humanos a la inhalación directa del aire contaminado con metales (Schnoor *et al.*, 1995). Esta estrategia incluye mecanismos para la fitorremediación de suelos como la fitoextracción y la fitoestabilización.

En el presente trabajo se aborda el estudio de la acumulación del plomo y cadmio en *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea* crecidas en jales provenientes de Tlaquiltenango Morelos. En el primer capítulo se desarrolla una revisión bibliográfica, que incluye una breve revisión de las actividades mineras en México, los inventarios de sitios contaminados abandonados, recientemente ponderados por la SEMARNAT, así como la problemática de los residuos mineros generados, las zonas mineras de interés para este trabajo, la problemática de los metales pesados como contaminantes de suelos y su posible restauración, aprovechando el conocimiento de los mecanismos de fitorremediación. Se incluye también una breve revisión relacionada con la localización del plomo en tejidos vegetales por técnicas histoquímicas. Posteriormente, se plantea el problema que justifica este trabajo, la hipótesis y los objetivos a cumplir. En el capítulo seis se explican con detalle los métodos y materiales utilizados para la caracterización fisicoquímica, el contenido total de EPT en jales, la extracción secuencial y la elección de un agente quelante, así como los procedimientos para la obtención *in vitro* de las especies en estudio, y su transplante a agrolita:turba y jales. Además, se detalla la secuencia de pasos para la localización del plomo en los tejidos *A. fistulosus* y *B. juncea*.

Los resultados y discusión integran el capítulo siete. Primero se presentan los resultados correspondientes a la caracterización fisicoquímica, el contenido total de EPT en los jales, la extracción secuencial de Pb y Cd, y la selección de agentes quelantes para la movilización de Pb y Cd en los jales. Posteriormente se muestra los resultados de sobrevivencia de las especies crecidas en los diferentes tratamientos, así como las tasas de crecimiento de ambas especies con y sin adición de EDTA, el índice de tolerancia y la acumulación de Pb y Cd en los tejidos vegetales. Asimismo, se muestran los estudios histológicos que indican la localización de depósitos de Pb en los tejidos de las especies estudiadas. También se evaluó la capacidad fitorremediadora de *A. fistulosus* y *B. juncea* a través de índices, como el factor de translocación y el coeficiente de fitoextracción. En los últimos capítulos se presentan las conclusiones y recomendaciones para la realización de estudios posteriores.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 La minería en México

México es uno de los países de Latinoamérica que se encuentra localizado en una región volcánica rica en minerales. Por lo anterior, la minería es una de las actividades económicas de mayor tradición que ha contribuido, en gran medida, con el desarrollo económico del país, suministrando insumos a una serie de industrias (construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica). La minería en México tiene una larga historia, si se considera que aún antes de la época prehispánica ya se realizaban actividades mineras y metalúrgicas en lo que hoy es Taxco, Guerrero, en las Sierras de Querétaro, Oaxaca y Chiapas, así como en la Cuenca del Río Balsas. Durante el Siglo XVI, esta actividad cobró auge constituyéndose en polo de desarrollo y dando lugar a la creación de ciudades como Chihuahua, Durango, Guanajuato, Saltillo, San Luis Potosí y Zacatecas. Esta actividad adquirió una gran relevancia económica y social en el período de la colonia, convirtiéndose entonces en el motor del crecimiento económico y modernización de la Corona Española (COREMI, 1994; Gutiérrez, 2003). La industria minera nacional es mayoritariamente metálica, y se dedica principalmente a la producción de cobre, zinc, plata y plomo. Debido al desarrollo industrial de la minería en nuestro país y a la falta de normatividad sobre los residuos que ésta genera, dicha industria ha producido por décadas una gran cantidad de desechos y sitios contaminados a lo largo de todo el país. Algunos ejemplos de casos relevantes de contaminación por metales en México son: (i) plomo en Torreón, Coahuila; (ii) cromo en Tultitlán, Estado de México; (iii) jales (conteniendo diferentes metales) en una serie de distritos mineros en diferentes estados de la República, como son Baja California Sur, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, México, Morelos, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas, entre otros (Velasco *et al.*, 2004).

En la actualidad la explotación minera en el país se realiza en dos modalidades: (i) explotación y beneficio de metales (preciosos e industriales) y (ii) explotación de piedras preciosas y minerales industriales, como los ópalos y caolines, respectivamente. El ejemplo más común de la contaminación de suelos por actividades mineras en México es la generada durante el beneficio del oro y la plata, realizado comúnmente por amalgamación con mercurio y por cianuración. En ninguno de los dos casos, es posible la recuperación total de los compuestos y/o elementos adicionados, por lo que es común encontrarlos en los residuos del proceso (jales) en forma soluble (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

En México, la separación del mineral de los materiales sin valor se lleva a cabo básicamente a través de dos métodos: la flotación y la hidrometalurgia. Los impactos ambientales ocasionados por los métodos de flotación aumentan proporcionalmente al incremento del uso de reactivos para favorecer el proceso (Gutiérrez y Moreno, 1997; Gutiérrez, 2003). En la Tabla 1 se muestran las fases de la minería así como el impacto sobre el ambiente, éste se relaciona con la composición del mineral, el tipo de explotación, el proceso de beneficio, la escala de operaciones, la capacidad de acomplejamiento de los metales con el suelo y agua, así como de las condiciones fisicoquímicas y biológicas del entorno, que pueden modificar el estado de oxidación de los metales (Velasco *et al.*, 2004).

Tabla 1. Relación de la actividad minera y su impacto al ambiente.

Fase	Descripción	Impacto ambiental
Prospección	Estudios de gravimetría, geología superficial y densidad, entre otros.	No generan impactos ambientales significativos
Exploración	Barrenación, perforaciones, construcción de caminos, instalación de campamentos	Destrucción de la vegetación
Explotación y beneficio	<ul style="list-style-type: none"> • Descapote: eliminación de suelo y vegetación • Construcción y obras diversas (tiros, socavones, patios de depósito) • Acumulación de material sin valor en terrenos • Transporte del material con valor hacia molinos • Extracción y concentración de minerales • Reducción del tamaño del mineral por trituración y molienda 	<ul style="list-style-type: none"> • Destrucción de la capa de suelo y la vegetación • Afectación a cuerpos de agua • Generación de jales • Escurrimientos y arrastres de residuos • Oxidación de minerales insolubles y formación de sustancias con alto contenido de metales (drenaje ácido) • Puede provocar ruido, vibración y emisión de polvo
Fundición y refinación	Obtención de metales y sus aleaciones (uso de hornos industriales). Eliminación de impurezas en los metales	Emisiones a la atmósfera, residuos peligrosos y aguas residuales

Fuente: Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005, tabla elaborada con datos de Dirección General de Minas, Subsecretaría de Minas, SEMIP, 1994; Gutiérrez y Moreno, 1997; Gutiérrez, 2003.

Durante 1995, la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), con ayuda de sus delegaciones estatales, comenzó la identificación de los sitios abandonados contaminados con residuos peligrosos a nivel nacional. En 1997, el listado preliminar

nacional de sitios abandonados contaminados con residuos peligrosos constaba de 59 sitios en 16 entidades federativas; para 1999, se contaba con el inventario correspondiente a 17 estados, en los cuales se localizaron 105 sitios sin responsable identificado (Tabla 2) (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005). Los sitios inventariados, se encuentran catalogados por prioridades (A, B y C), con base en sus características (magnitud, tipo y concentración de contaminantes) y niveles potenciales de afectación a la salud y al ambiente (SEMARNAT, 2004 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005) y se definen como sigue:

***Prioridad A.** Sitios con alto nivel de afectación y riesgo a la salud humana y al ecosistema se debe a la presencia de los siguientes factores: tamaño del sitio, ubicación, naturaleza y cantidad de residuos. Son sitios que requieren de acciones urgentes y a corto plazo a fin de minimizar y/o eliminar sus efectos.

***Prioridad B.** Sitios con afectación moderada debido a la presencia de alguno de los factores como: tamaño, ubicación, naturaleza o cantidad de residuos; requieren, a corto plazo, medidas de control que eviten la dispersión de los contaminantes y el contacto con la población, a fin de restaurarlos a mediano plazo.

***Prioridad C.** Sitios con un bajo nivel de afectación para la población o el ambiente; requieren de un plan de seguimiento de las condiciones presentes a fin de prevenir situaciones que pudieran incrementar el grado de afectación.

Entre los residuos peligrosos detectados, los metales pesados ocupan el primer lugar (61 sitios). A su vez, el Pb es el más común de los metales pesados, presentándose en 23 de estos sitios. Como puede verse, la contaminación de suelos por metales es un problema persistente en muchos sitios del territorio. Dos de los contaminantes más frecuentes en las zonas mineras del país son el As y el Pb, además del Cd en algunas de ellas. A estos metales se les conoce como elementos potencialmente tóxicos (EPT). El término elemento potencialmente tóxico, incluye a todos aquellos elementos (metales pesados, metaloides y esenciales) que debido a sus características y cantidades pudieran ser tóxicos para la flora, fauna y ser humano. Estos EPT, comúnmente, se encuentran en residuos como jales y escorias de fundición, cuyo volumen supera las 80 000 ton (solamente en sitios registrados en los que se ha calculado el volumen) (SEMARNAT, 2004 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Tabla 2. Número y distribución de sitios abandonados por entidad federativa de acuerdo a su prioridad.

ESTADOS	PRIORIDAD			
	TOTAL	A	B	C
Baja California	2	2	0	0
Coahuila	1	0	1	0
Chihuahua	2	2	0	0
México	17	6	7	4
Guanajuato	6	2	2	2
Hidalgo	12	4	5	3
Jalisco	3	2	1	0
Morelos	2	0	1	1
Nuevo León	5	1	3	1
Puebla	2	0	2	0
Querétaro	16	0	2	14
San Luis Potosí	8	7	0	1
Sonora	2	1	1	0
Tamaulipas	3	2	0	1
Tlaxcala	3	0	0	3
Veracruz	12	5	3	4
Zacatecas	9	4	5	0
Total	105	38	33	34

A: Sitios con alto nivel de afectación; B: Sitios con moderado nivel de afectación; C: Sitios con bajo nivel de afectación. Fuente: SEMARNAT, 2004 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005.

1.2 Jales en México

Como consecuencia de varios siglos de actividad minera en México, se han producido cantidades grandes y difíciles de cuantificar de residuos mineros (jales). Los jales son el producto de la trituración y molienda del mineral una vez que se han recuperado los metales comerciales mediante procesos físicos y químicos que contienen EPT (Armienta *et al.*, 2005). Los EPT más comunes derivados del proceso de minería en el caso de México, son Pb, Cd, Zn, As, Se y Hg (Gutiérrez y Moreno 1997; Gutiérrez 2003). El número de sitios contaminados con EPT, aún en las estimaciones más conservadoras, asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial se desconoce. Consecuentemente, los jales pueden

contener cantidades variables de sulfuros, minerales de ganga y residuos de los reactivos utilizados en el proceso de beneficio. Los sulfuros metálicos de los jales al estar expuestos al intemperismo pueden oxidarse y liberar metales y metaloides tóxicos en el proceso conocido como drenaje ácido de minas, produciendo aguas con un bajo pH y elevadas concentraciones de sulfatos (Ritcey, 1989; US EPA, 1994; Gray, 1997; Younger, 2000). El procesamiento de los minerales provenientes de cada tipo de yacimiento dará origen a una mineralogía distinta de los jales resultantes. Además, los residuos se ubican en sitios del país con climas diversos (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

De acuerdo a las regulaciones internacionales y nacionales (NOM-141-SEMARNAT-2003), la peligrosidad de los jales está en función de: (i) su capacidad de generación de acidez y (ii) su contenido de constituyentes tóxicos fácilmente solubles o disponibles. La disponibilidad de los metales y metaloides tóxicos que contienen los jales depende principalmente de (i) pH, (ii) potencial de óxido-reducción, (iii) actividad bacteriana, (iv) composición química y mineralógica original, (v) condiciones climáticas de la región donde se ubiquen. Estos factores determinan el desarrollo y velocidad de procesos físicos y químicos que influyen en la liberación y retención de los metales y metaloides tóxicos (Armienta *et al.*, 2005).

Con base en los antecedentes anteriores, este trabajo se desarrolló con materiales provenientes de dos estados próximos a la ciudad de México: Morelos e Hidalgo en donde la cantidad y disposición de los jales son preocupantes por el riesgo al que se exponen las poblaciones cercanas. A continuación se describen los sitios de estudio.

1.2.1 Jales en Tlaquiltenango, Morelos

1.2.1.1 Antecedentes de la zona de estudio

El estado de Morelos tiene una superficie territorial de 4 941 km², cuenta con 33 municipios y representa el 0.2% de la superficie del país, sus coordenadas geográficas son: al norte 19°08', al sur 18°20' al este 98°38', al oeste 99°30'. El estado colinda al norte con México y el Distrito Federal, al este con México y Puebla, al sur con Puebla y Guerrero, y al oeste con Guerrero y México (INEGI, 2004).

El poblado de Huautla se ubica en el sureste del estado de Morelos, dentro del municipio de Tlaquiltenango. Este municipio es el más grande del estado, con una superficie territorial de 468 km², y su población en el año 2000 era de 29 958 habitantes (INEGI, 2004). En el Estado de Morelos se conocen afloramientos de rocas ígneas y sedimentarias. Las rocas

volcánicas son las más jóvenes y las más abundantes. Morelos está comprendido dentro de dos provincias geológicas: la del Eje Neovolcánico y la de la Sierra Madre del Sur. La única explotación de minerales metálicos que existía en el estado, era en la población de Huautla, donde se obtenían sulfuros de plata y plomo. El yacimiento de la zona es de origen hidrotermal y se presenta en forma de vetas. Los materiales volcánicos que abundan en esta provincia son, en su mayoría, susceptibles de aprovechamiento y suelen utilizarse como material de construcción (tezontle) (INEGI, 2004). Huautla representó para el municipio de Tlaquiltenango una de las comunidades más importantes debido a la explotación minera, principalmente de plata, plomo y zinc, desde el siglo XVI hasta 1988.

1.2.1.2 Actividad minera en la región

Durante los siglos XVIII y XIX se explotaron en la región, de manera intermitente, las minas San Francisco, Santa Ana, Plomosa, Reforma, Ánimas y San Esteban, todas dejaron su actividad en 1918. En 1920 la compañía francesa Santiago y Anexas S.A., instaló una planta con capacidad de 75 ton/día. En 1950, la Compañía Exploradora de Minas S.A. explotó las minas Tlalchichilpa, Santiago, Peregrina y Nueva Peregrina. Entre 1976 y 1988, la Compañía Rosario de México, S.A. explotó otras minas de la zona, produciendo de 140 a 190 ton/día de sulfuros de Ag y Pb, con leyes de cabeza de 170 g/ton y 0.5%, respectivamente. Las minas dejaron de explotarse en 1993 y actualmente no hay indicios de que vuelvan a ser explotadas (COREMI, 1992, citado por Velasco *et al.*, 2004).

1.2.1.3 Problemática en la región

Debido a la riqueza natural de minerales azufrados de Pb y Ag en la zona, así como a su explotación minera, en la comunidad de Huautla se han identificado grandes cantidades de residuos llamados colas de flotación y de material no procesado rico en Pb, Cd y Mn solubles. Estos materiales se encuentran dispuestos a la intemperie y al borde del Arroyo Chico, que se junta con los arroyos (de temporal) Juchitlán, Salitre y Atlipa, para formar el Arroyo Grande que desemboca en el Río Amacuzac. La lixiviación de estos metales hacia los cuerpos de agua cercanos y su transporte a otras regiones, tiene una gran probabilidad de ocurrir durante la temporada de lluvias, de acuerdo con la SEMARNAT, la cantidad de residuos depositados en esta zona se estima en 780 mil toneladas, en donde el principal contaminante es plomo (Velasco *et al.*, 2004).

1.2.2 Jales en Zimapán, Hidalgo

1.2.2.1 Antecedentes de la zona de estudio

El estado de Hidalgo colinda al norte con San Luis Potosí y Veracruz, al este con Puebla, al sur con Tlaxcala y México y al oeste con Querétaro. Por el sur pasa el Eje Neovolcánico, por las partes norte y oriente pasa la Sierra Madre Oriental. El Municipio de Zimapán se localiza a 144 kilómetros de Pachuca, entre los paralelos 20° 44' de latitud norte y 99° 23' al oeste, a una altura de 1 780 metros sobre el nivel del mar. El Municipio tiene un clima templado, una temperatura media anual de 18.3°C, una precipitación pluvial de 391 mm por año y el período lluvioso es de mayo a junio. Hidalgo también cuenta con una importante industria por su localización cercana al Distrito Federal, es sede de las Cementeras Cruz Azul, Tolteca y Holcim Apasco, así como de compañías mineras (INEGI, 2005).

1.2.2.2 Actividad minera en la región

El Municipio de Zimapán, es uno de los más importantes por su extensión, población y desarrollo de la zona occidental de la Entidad, y cuenta con una industria minera. Esta última actividad es tradicional en el Municipio, por la cual se fundó Zimapán, y por la que se ha originado un giro en la vida de muchos de sus habitantes, ya que la explotación de sus minas por generaciones, ha sido el punto vital de su existencia. En la Tabla 3 se muestra la distribución de minas explotadas en Zimapán desde la primera década del siglo XX.

Tabla 3. Distribución de minas explotadas en Zimapán, Hidalgo.

Mina	Mineral
Nuestra Señora	Oro, plata y argentita
Balcones	Galena, calcosita, blenda o enfalectia, zinkenita
Espíritu Santo	Galena y piritita
Cruz	Cerusita
Lomo de Toro	Galena
Las Vardosas	Galena
Clemente	Galena y calcosita
Santa Inés	Galena y cerusita
Santa Rita	Galena y cerusita

Fuente: Modificación de Enciclopedia de los Municipios de México Estado de Hidalgo, Zimapán, 2005.

Se tiene conocimiento de más minas en las que no se especifican los metales que se producían, como las minas La Luz, Xicotencatl, San Miguel, Dolores, Rosario, el Santísimo, Señor de las Maravillas, Concordia, San Antonio, la Soledad, Dolores y San Felipe. Actualmente las compañías que explotan las minas de Zimapán son Compañía de Fresnillo S.A. de C.V., Compañía Minera de Zimapán S.A. de C.V., Minera de San Miguel S.A., Compañía Minera el Carrizal S. de R.L. de C.V, las mineras Real del Monte y Pachuca (propiedad de Grupo Peñoles) y Minerales Industriales S.A. de C.V. (cerrada temporalmente) que producen plata y galena, en donde se obtiene plomo como subproducto (INEGI, 2005).

1.2.2.3 Problemática en la región

Las vetas de la región están conformadas por sulfuros de plomo, cobre y zinc. Además, contienen minerales como calcopirita, anglesita, hidrocincita, cerusita, galena, piritita, cuarzo, calcita, hematita y sericita. Las rocas que alojan la mineralización son andesitas y calizas. Dentro del área se conoce una gran variedad de minerales no metálicos, entre ellos: mármol, barita, dolomita, yeso, wallastonita y fosforita. La actividad minera en Zimapán contribuye de manera importante al sostén de la economía del lugar (INEGI, 2005), pero desafortunadamente esta actividad ha generado una cantidad no cuantificable de jales. Además, la disposición inadecuada de los jales a la intemperie y los fuertes vientos del lugar, han generado la dispersión eólica de los contaminantes.

1.3 Metales pesados y toxicidad

Los metales son sustancias con características de brillo y que son buenos conductores de calor y electricidad; con excepción del mercurio, todos los metales son sólidos a temperatura ambiente. Son más o menos maleables (formación de láminas) y dúctiles (formación de alambres). La mayoría posee propiedades de dureza, con excepción de los alcalinos, que son muy suaves. Químicamente, tienden a perder electrones para formar iones positivos (cationes). El término metal pesado se usa comúnmente en materia de contaminación ambiental, su extensivo uso ha causado confusión. Una de las definiciones más comunes se aplica a metales con una densidad mayor a 5 g/cm³. Sin embargo, dentro de esta clasificación también se incluyen elementos (no metales) con propiedades químicas muy diferentes. Otra clasificación más aceptada, se basa en la acidez de Lewis y se enfoca en las propiedades químicas de los metales, de manera que los metales pesados se clasifican como elementos de clase A (duros), clase B (suaves) y de frontera. Esta clasificación se

basa en la forma en la que se unen los metales en sus complejos y determina las posibilidades para la formación de los mismos (Duffus, 2001 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Se incluyen otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, forman parte del grupo de los metales pesados por orígenes y comportamientos asociados; este es el caso de As, B, Ba y Se. Además, los metales pesados se clasifican en dos grupos (García y Dorronsoro, 2005):

- 1) **Oligoelementos o micronutrientes.** Son los requeridos en cantidades traza por plantas y animales; son necesarios para que los organismos completen su ciclo de vida, pero son tóxicos una vez superado cierto umbral de concentración. Tales como Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.
- 2) **Sin función biológica conocida.** Son altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, e incluyen Cd, Hg, Pb, Bi, Sn, Tl.

La toxicidad de los metales pesados depende de su concentración, forma química y persistencia, que se define como el tiempo que tarda un contaminante en transformarse en una forma no tóxica. Un elemento indispensable para un ser vivo en concentraciones traza, puede llegar a ser tóxico en concentraciones elevadas. Por otra parte, la mayoría de los metales pesados se combinan con otras formas químicas, antes de entrar en los organismos o cuando se encuentran en el interior; por tanto, antes de determinar la toxicidad de un elemento es necesario determinar la forma química en la que éste se encuentra. Los metales pesados se consideran muy peligrosos para los seres vivos en general, en parte, debido a su elevada tendencia a bioacumularse. La toxicidad la causa frecuentemente la imposibilidad del organismo afectado para excretar los contaminantes. El problema esencial es que, debido a la semejanza entre muchos contaminantes y elementos traza esenciales, las células pueden incorporar elementos tóxicos que pueden causar daños letales, en lugar de elementos esenciales (Navarro *et al.*, 2007).

1.3.1 Plomo

Se ubica en el grupo IV-A en la tabla periódica. Es un metal gris azulado que se presenta en forma natural y en pequeñas cantidades (0.002%) en la corteza terrestre. Generalmente se obtiene a partir de la galena (PbS), la anglesita (PbSO₄) y la cerusita (PbCO₃). El uso más amplio del Pb elemental es para la fabricación de acumuladores; también se emplea

en la fabricación de tetra-etilo de plomo, pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldadura suave y municiones (ATSDR, 2005 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

En el suelo el Pb, se encuentra principalmente en forma de Pb^{2+} , aunque también se conoce su estado de oxidación Pb^{4+} . Algunos de los compuestos insolubles son $Pb(OH)_2$, $PbCO_3$, PbS , $PbSO_4$. El carbonato de plomo, formado a pH menor a 6 y el PbS son las formas sólidas más estables del plomo. La velocidad de oxidación del plomo depende de factores como la humedad, la temperatura, el pH, el potencial redox, la cantidad de materia orgánica (Guitart, 2005).

En los seres humanos, el Pb es un elemento que no cumple una función vital en el organismo y que resulta tóxico, incluso en pequeñas dosis. Puede afectar a casi todos los órganos y sistemas en el ser humano. El más sensible es el sistema nervioso, tanto en niños como en adultos. Los efectos del plomo en la salud de los niños pueden incluir problemas de comportamiento y de aprendizaje (hiperactividad), crecimiento atrasado, problemas auditivos, dolores de cabeza y daño al cerebro y al sistema nervioso central. Los adultos expuestos al plomo pueden sufrir de problemas reproductivos, presión sanguínea alta, trastornos digestivos, dolor en los músculos y en las coyunturas, problemas de memoria y de concentración y trastornos nerviosos (Matte, 2003). El plomo se fija a las enzimas y altera la estructura y función de muchas proteínas, interfiriendo así con la acción y la finalidad de muchos tipos diferentes de células del cuerpo. El Pb puede alterar el metabolismo del Ca, sustituyéndolo y dañando las células. Penetra en el cuerpo no sólo por vía oral, sino también por las vías respiratorias (Buka, 2001).

1.3.2 Cadmio

Pertenece al grupo de metales de transición (grupo B) y se encuentra de forma natural como CdS o $CdCO_3$. Normalmente se encuentra como impureza en minerales de Zn (3 kg Cd/ton Zn), Cu y Pb. Los compuestos de Cd son muy tóxicos; la sobreexposición aguda a humos, producidos por la combustión de materiales contaminados con Cd puede causar daño pulmonar, mientras que la exposición crónica se asocia con daños renales y con un aumento de riesgo de cáncer. Su principal uso es como cubierta protectora sobre otros metales, para la manufactura de baterías de níquel-cadmio y como estabilizador del PVC. El Cd es liberado al ambiente por actividades antropogénicas como la minería, la metalurgia, la combustión de carbón y de petróleo, por la mala disposición de residuos

sólidos municipales y peligrosos, así como por la quema de plásticos (principalmente PVC). El Cd tiende a depositarse y adherirse a la materia orgánica del suelo; sin embargo, se disuelve en agua, por lo que puede llegar a los cuerpos naturales de agua (Lide, 1997; Csuros y Csuros 2002; ATSDR 2005 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Las formas más comunes de cadmio, incluyen Cd^{2+} , complejos de cadmio-cianuro y $\text{Cd}(\text{OH})_2$. Las formas dominantes a pH alto son hidróxidos y carbonatos, mientras que a pH bajo (<8) predomina el Cd^{2+} . Bajo condiciones reductoras, en presencia de azufre, se forma sulfuro de cadmio (CdS) que, por su estabilidad, controla su movilidad. El Cd también precipita en presencia de fosfato, arseniato, cromato y otros aniones (Evanko y Dzombak, 1997; ATSDR, 2004 citado por Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

El Cd es considerado uno de los contaminantes más peligrosos, porque muchas plantas y algunos animales comestibles lo absorben eficazmente y lo concentran dentro de sus tejidos. Una vez absorbido, en animales se combina con las metalotioneínas y se acumula en los riñones, el hígado y los órganos reproductores. A nivel molecular el Cd es conocido como bloqueador del calcio en la membrana plasmática. En general, se sabe que el cadmio desplaza al calcio y al zinc en determinadas proteínas además de causar estrés oxidativo. El resultado final suele ser un daño severo en el DNA y en los lípidos. El Cd en niveles bajos que se encuentra en el aire, los alimentos o el agua, puede acumularse en los riñones, esta acumulación además puede producir enfermedades renales, lesiones en los pulmones y fragilidad de los huesos. También se ha demostrado que el cadmio en los animales causa aumento de la presión sanguínea, déficit de hierro en la sangre, enfermedades del hígado, lesiones en los nervios y el cerebro (ATSDR, 1999).

Los metales pesados pueden alcanzar concentraciones que provocan efectos negativos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo como: variación del pH, generando suelos ácidos; efectos adversos en el número, diversidad y actividad microbiana de la rizósfera; dificultan el crecimiento de una cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, la erosión del suelo y la dispersión de contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes; como consecuencia de esto aumenta la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, afectando su desarrollo (Zhang *et al.* 2000., citado por Pineda Hernández, 2004).

1.4 Movilidad de los metales pesados en el suelo

La contaminación del suelo por metales pesados está fundamentalmente relacionada con diferentes tipos de actividades humanas. Una vez en el suelo, éstos pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la fase acuosa o solución del suelo mediante diferentes mecanismos físicos, químicos y biológicos (Pagnanelli *et al.*, 2004). Los metales pesados en un suelo, se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida; redistribución que se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal y de las propiedades del suelo (Han *et al.*, 2003). La movilidad relativa de los elementos traza en suelos es de suma importancia para su disponibilidad y su potencial para lixiviar a través de los diferentes perfiles del suelo hasta el agua subterránea (Burt *et al.*, 2003).

En general, los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir diferentes vías de movilización como las que se señalan en la Figura 1. Éstos pueden quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa, ocupando sitios de intercambio, o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos, asociados con la materia orgánica y/o precipitados como sólidos puros o mixtos. Pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas, pueden pasar a la atmósfera por volatilización (Se y Hg) y pueden mobilizarse a aguas superficiales o subterráneas (García y Dorronsoro, 2005).

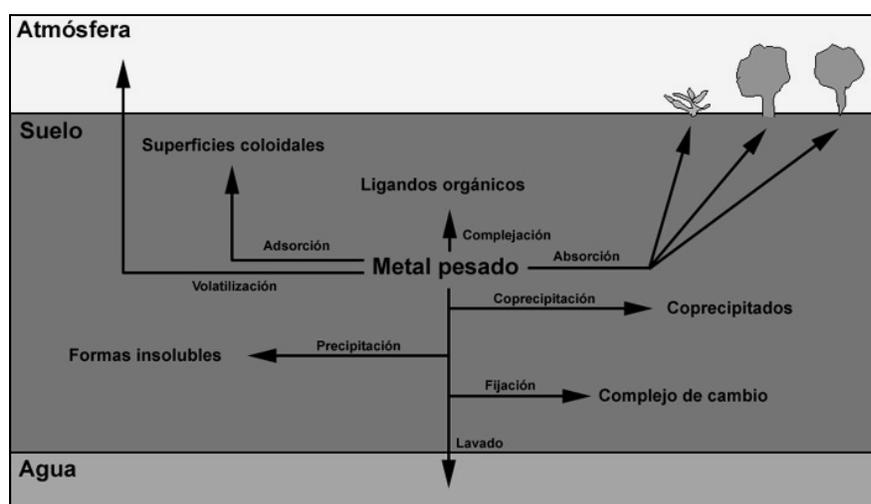


Figura 1. Movilización de metales pesados.
Fuente: Gestión y conservación del suelo.

Para elucidar el comportamiento de los metales pesados en los suelos y prevenir riesgos tóxicos potenciales se requiere la evaluación de la disponibilidad y movilidad de los mismos (Banat *et al.*, 2005). Los principales factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo son: (i) características del suelo: pH, potencial redox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de intercambio, presencia de carbonatos, materia orgánica, textura; (ii) naturaleza de la contaminación: origen de los metales y forma de deposición y (iii) condiciones medioambientales: acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de temperatura y humedad (Sauquillo *et al.*, 2003). Además otro factor que interviene en la movilización de los metales en el suelo, es la presencia de agentes quelantes sintéticos o ácidos orgánicos de bajo peso molecular (do Nascimento *et al.*, 2005).

1.5 Agentes quelantes

El nombre *quelante* se deriva de la palabra griega “chela”, que significa pinza, porque el anillo que se forma entre el quelante y el metal es similar, en apariencia, a los brazos de un cangrejo con el metal en sus pinzas. En la Figura 2 se muestran algunos ejemplos de agentes quelantes. Se ha demostrado que el ácido etilen diamino tetra acético (EDTA) es uno de los agentes quelantes sintéticos más eficientes para incrementar la solubilidad de varios metales en el suelo como el plomo, cromo y cobre. (Blaylock *et al.*, 1997). La capacidad del EDTA para aumentar la concentración de metales solubles en el suelo está influenciada por varios factores como la concentración y tipo de metales, el pH del suelo, y el tipo de partículas del suelo, entre otras. Sin embargo, su uso tiene algunas desventajas como que no es selectivo para extraer un solo metal (Barona *et al.*, 2001) debido a que forma complejos con cationes como Al^{3+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} Mg^{2+} (Wasay *et al.*, 1998). Una alternativa para movilizar metales en el suelo es el uso de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (ácido málico, tartárico, cítrico, glucónico y láctico), identificados en los exudados de las raíces de vegetales comunes, cereales y soya. Hoy en día está muy bien documentado que los exudados de las raíces están involucrados en la liberación de nutrientes en el suelo (Schnitzer, 2000).

La importancia de los agentes quelantes en el suelo, se debe a su capacidad para incrementar la solubilidad de cationes metálicos, logrando así que las raíces de las plantas los absorban fácilmente, pero cuando la concentración de metales disponibles en el suelo es excesiva, las plantas pueden presentar síntomas de toxicidad como respuesta al estrés ocasionado por los mismos (Ann *et al.*, 2005).

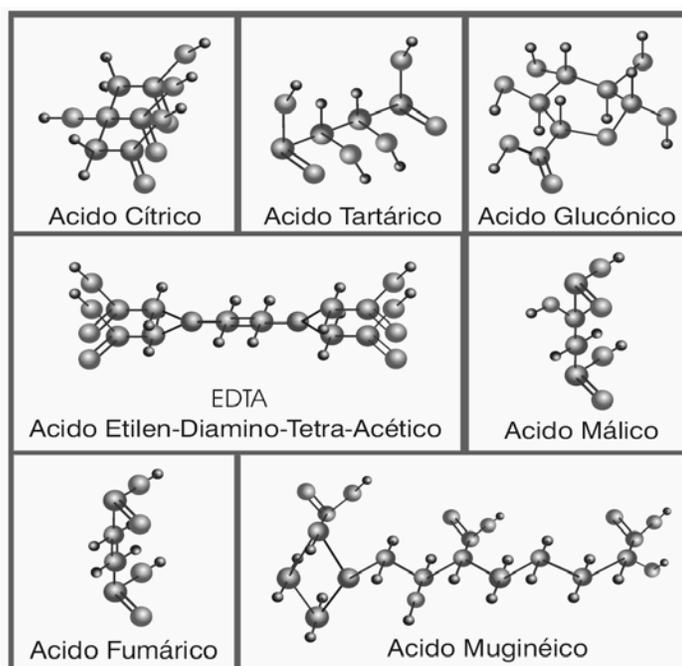


Figura 2. Ejemplo de agentes quelantes.

1.6 Tecnologías de remediación

El término tecnología de remediación implica el uso de cualquier operación unitaria o conjunto de ellas, que altere la composición de un contaminante peligroso a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan su toxicidad, movilidad o volumen en la matriz o material contaminado. En la legislación mexicana (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003) el término remediación de suelos se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y restablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005). Recientemente se han establecido en México límites máximos permisibles para suelos contaminados con arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio (NOM-147 SEMARNAT/SSA1-2004). Cuando al menos una de las concentraciones de estos elementos se encuentre por arriba de los límites máximos permitidos, es necesario implementar acciones de remediación (Tabla 4).

Tabla 4. Límites máximos permisibles de diferentes contaminantes en el suelo.

Contaminante	Uso agrícola/ residencial (mg/kg)	Uso industrial (mg/kg)
Arsénico	22	260
Berilio	150	1900
Cadmio	37	450
Cromo Hexavalente	280	510
Mercurio	23	310
Níquel	1 600	20 000
Plomo	400	750
Selenio	390	5100
Talio	5.2	67
Vanadio	550	7 200

Fuente: NOM-147 SEMARNAT/SSA1-2004.

Las técnicas tradicionales de remediación de suelos contaminados con metales pesados generalmente incluyen prácticas convencionales de ingeniería civil. En estos procesos físicos y químicos principalmente, se requiere remover físicamente el suelo del sitio contaminado o bien minimizar el riesgo de exposición. Las técnicas de remediación físicas y químicas tienen como desventajas: un alto costo, elevado consumo de energía y la eventual destrucción del sitio contaminado, entre otras. Debido a las limitaciones que presentan dichas tecnologías de remediación surge la necesidad de utilizar técnicas alternas como la fitorremediación.

1.7 Fitorremediación

La *fitorremediación* se define como el uso de vegetación y la microbiota asociada para el tratamiento de suelos, sedimentos y aguas contaminadas. Puede utilizarse para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes orgánicos (herbicidas, pesticidas, hidrocarburos) e inorgánicos (metales) en suelos, lodos y sedimentos, y puede aplicarse tanto *in situ* como *ex situ* (Salt *et al.*, 1998; Meagher, 2000; Van Deuren *et al.*, 1997).

La aplicación de la fitorremediación tiene limitaciones como la profundidad de penetración de las raíces, la fitotoxicidad en áreas fuertemente contaminadas y tiempos de proceso prolongados con respecto a otras técnicas de remediación (Cunningham *et al.*, 1997). Dependiendo de la estrategia de recuperación, estos procesos darán lugar a la inmovilización o a la eliminación de los contaminantes del suelo. Lo anterior, depende de la selección de

la especie vegetal a utilizar, para lo cual es necesario tener en cuenta: (i) adaptación a las condiciones del sitio y suelo; (ii) facilidad para su establecimiento y mantenimiento; (iii) rápido crecimiento y desarrollo del sistema radicular; (iv) buena cobertura del suelo, para prevenir erosión por viento y agua; (v) bajo mantenimiento, por ejemplo necesidades de agua; (vi) estabilidad a largo plazo. Además, es importante considerar la utilización de especies nativas del sitio, ya que el establecimiento de cultivos será más sencillo (US EPA, 1997). Determinar la tolerancia y acumulación de metales en plantas es un aspecto básico para la identificación del riesgo de salud pública, así como para conocer las necesidades y alternativas de restauración del sitio. Se han encontrado especies vegetales que tienen la capacidad de tolerar y acumular grandes cantidades de metales pesados cuando se siembran en suelos contaminados y podrían representar una alternativa de remediación ecológica y económicamente rentable (Cunningham *et al.*, 1995).

1.7.1 Capacidad de las plantas para tolerar y acumular metales pesados

Algunos metales o metaloides no son esenciales para la planta, pero son absorbidos, acumulados y translocados debido a que presentan un comportamiento similar a elementos requeridos por las células. Las plantas necesitan macro-nutrientes y micro-nutrientes (Tabla 5). Los primeros se utilizan en grandes cantidades (g/L) para producir la biomasa y para llevar a cabo procesos fisiológicos primordiales. Los micronutrientes suelen ser cofactores necesarios para las enzimas y, por tanto, la planta los recicla. Las plantas exhiben síntomas característicos de deficiencia cuando no reciben el suministro adecuado de uno o más nutrientes esenciales (Murray, 2006); sin embargo, cualquier elemento que es beneficioso para la célula, en concentraciones excesivas puede llegar a ser tóxico.

Las plantas tienen la capacidad de acumular metales en sus tejidos, pero la sensibilidad de cada especie a los metales pesados varía considerablemente en función del reino y la división, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes respecto a las demás especies (Rosa *et al.*, 1999). Las diferentes respuestas de las plantas vasculares a metales pesados pueden atribuirse a factores genéticos y fisiológicos (Calow, 1993).

La tolerancia y acumulación de metales en las plantas es específica del tipo de cultivo, la composición del suelo, la cantidad de materia orgánica presente, el tipo de contaminante y su concentración. En general, se conocen dos grupos de plantas que se distinguen por su capacidad para acumular metales pesados: las excluseras o fitoestabilizadoras y las fitoacumuladoras. El primer grupo, son plantas que acumulan altas concentraciones de

metales en las raíces y evitan su transporte a la parte aérea. Se han identificado algunas familias de plantas como candidatas para la fitoestabilización: *Anarcardiaceae*, *Apiaceae*, *Aspholadelaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae*, *Chenopodiaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Malvaceae*, *Plumbaginaceae*, *Poaceae* y *Polygonaceae* (Mendez y Maier, 2008).

Tabla 5. Nutrientes esenciales para la mayoría de las plantas vasculares.

Elemento	Símbolo químico	Forma disponible para los vegetales	Importancia en las plantas
Macronutrientes			
Carbono	C	CO ₂	Esencial para compuestos orgánicos
Oxígeno	O	CO ₂	Esencial para compuestos orgánicos
Hidrógeno	H	H ₂ O	Esencial para compuestos orgánicos
Nitrógeno	N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	Elemento para la formación de nucleótidos, ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas y coenzimas
Azufre	S	SO ₄ ²⁻	Elemento para la síntesis de proteínas coenzimas y aminoácidos
Fósforo	P	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻	Elemento para la síntesis de ATP y ADP, ácidos nucleicos y fosfolípidos
Calcio	Ca	Ca ²⁺	Esencial para la estabilidad de las paredes celulares, mantenimiento de la estructura y permeabilidad de las membranas; actúa como cofactor enzimático y regula algunas respuestas a estímulos
Magnesio	Mg	Mg ²⁺	Activador enzimático y componente de la clorofila
Micronutrientes			
Cloro	Cl	Cl ⁻	Esencial en la ruptura del agua de la fotosíntesis, actúa en la osmosis y el equilibrio iónico
Hierro	Fe	Fe ³⁺ , Fe ²⁺	Activador de algunas enzimas, forma parte de los citocromos y la nitrogenasa, necesario para la síntesis de clorofila
Boro	B	H ₂ BO ₃ ⁻	Necesario para la síntesis de clorofila
Manganeso	Mn	Mn ²⁺	Activador de algunas enzimas, implicado en la integridad de las membranas de los cloroplastos
Zinc	Zn	Zn ²⁺	Activador de algunas enzimas, implicado en la formación de la clorofila
Cobre	Cu	Cu ²⁺ , Cu ¹⁺	Implicado en las reacciones de oxidación/reducción, componente de las enzimas biosintéticas de la lignina
Molibdeno	Mo	MoO ₄ ²⁻	Participa en la fijación de nitrógeno y en la reducción de nitratos
Níquel	Ni	Ni ²⁺	Cofactor para una enzima que actúa en el metabolismo del nitrógeno

Fuente: Murray 2006.

Por el contrario, las plantas hiperacumuladoras son aquellas que acumulan grandes cantidades de metales pesados en sus brotes sin que se observen daños visibles en el metabolismo (Baker, 1981; Chen *et al.*, 2001). Por definición, las plantas hiperacumuladoras de Pb, Ni, Co, y Cu son aquellas capaces de acumular en la parte aérea más de 1 000 mg/kg de peso seco, en tanto que las plantas hiperacumuladoras de Cd deben acumular hasta 100 mg/kg de peso seco (Baker *et al.*, 1989). Las plantas hiperacumuladoras generalmente producen poca biomasa debido a que utilizan más energía en los mecanismos necesarios para adaptarse a las altas concentraciones de metales en tejidos (Kabata, 2000). Se han identificado cerca de 400 hiperacumuladoras; entre las familias dominantes se encuentran: *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Cyperaceae*, *Cunouniaceae*, *Europhobiaceae*, *Fabaceae*, *Flacourtiaceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae* y *Violaceae*. De estas familias, *Brassicaceae* tiene el mayor número de taxones (11 géneros y 87 especies) con capacidad de hiperacumular metales (Prasad y Freitas 2003). Entre las plantas comúnmente usadas para la fitoextracción de Pb se encuentra el girasol (*Helianthus annuus*) y la mostaza de la India (*Brassica juncea*); para Zn, Cd y Ni, *Thlaspi* spp. (ITRC 1999).

1.7.2 Estudios histoquímicos

De los dos grupos de plantas que se distinguen para fitorremediar suelos contaminados con metales pesados, existe poca información morfo-fisiológica relacionada con su capacidad para acumular los metales en raíces o en parte aérea. Algunos autores han desarrollado técnicas histoquímicas para analizar la distribución de metales en los tejidos de raíces y parte aérea (Seregin y Kozhevnikova, 2008). La histoquímica es la aplicación de reacciones químicas y bioquímicas en técnicas histológicas, con el fin de localizar y determinar de manera científica ciertas sustancias o su actividad. En todas estas reacciones, la sustancia buscada se colorea, o bien, los colorantes reaccionan químicamente con ella. La técnica histológica es una serie secuencial de pasos, a través de los cuales, una muestra de tejido se transforma en delgados cortes observables al microscopio, cumpliendo con varias condiciones: (i) la sustancia original se inmoviliza y visualiza en el microscopio en la localización celular original; (ii) la sustancia debe ser identificada por un procedimiento específico para ella o para el grupo químico al que pertenece. Glater y Hernández (1972) fueron los primeros en introducir la técnica histoquímica, empleando rodizonato de sodio, para detectar depósitos de Pb en tejidos de plantas. En 1995, Tung y Temple, encontraron depósitos de Pb en la pared celular de raíces de tomate, frijol, rábano y lechuga; en las hojas, los depósitos de Pb se encontraron en el sistema vascular y en las superficies

evaporativas al término de la transpiración. Este grupo confirmó que el Pb se transporta por la vía apoplástica y que el rodizonato de sodio reacciona únicamente a la presencia de Pb.

La determinación histoquímica de Pb en tejidos vegetales puede ser cualitativa o cuantitativa. Se ha demostrado que la absorción de metales pesados en raíces, es generalmente el primer paso de entrada a la planta. La absorción y posterior acumulación en otros tejidos dependerán de: (i) el movimiento de los metales desde la fase líquida del suelo hasta la raíz de la planta, (ii) el paso de los metales por las membranas de las células corticales de la raíz, (iii) el paso selectivo del metal a través de la endodermis (paso restrictivo) y (iv) la entrada al cilindro vascular (xilema y floema). Las plantas han desarrollado diferentes mecanismos altamente específicos para absorber, transportar y acumular metales conocidos como mecanismos de fitorremediación (Lasat, 2000), los cuales son brevemente descritos en las siguientes secciones.

1.7.3 Mecanismos de fitorremediación

La fitorremediación aplicada a suelos contaminados con elementos o compuestos inorgánicos se ilustra en la Figura 3. Este proceso, incluye básicamente tres mecanismos: fitoestabilización, fitoextracción y fitovolatilización (Prasad y Freitas, 2003).

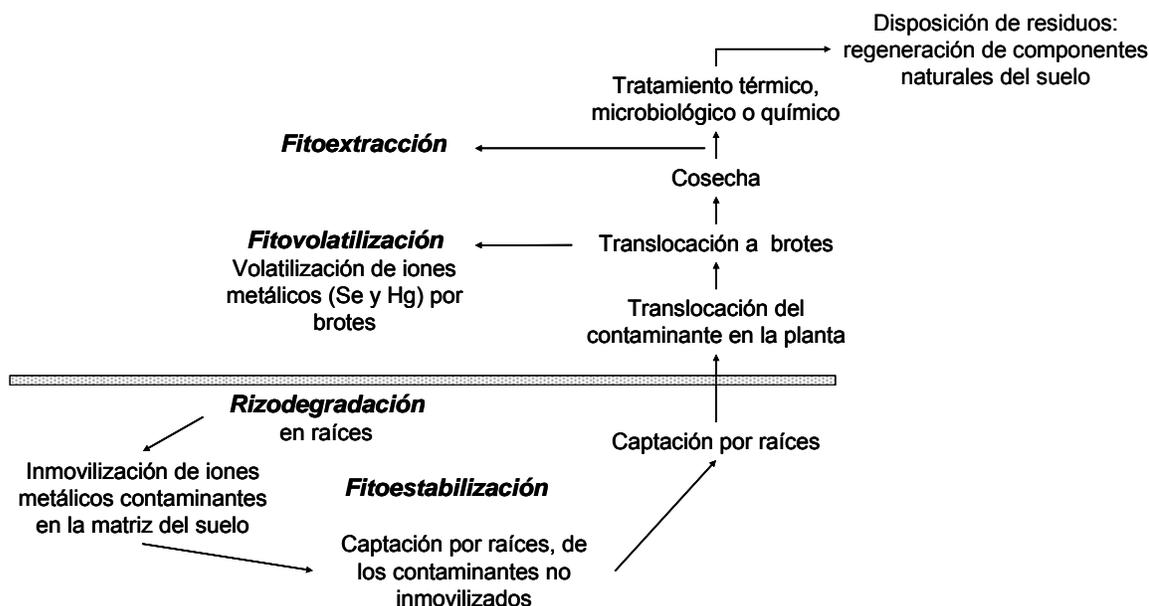


Figura 3. Esquema general de la descontaminación de iones metálicos en un proceso natural de fitorremediación en el suelo. Fuente: Singh *et al.*, 2003; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005.

a) Fitoestabilización

Es el uso de plantas para inmovilizar contaminantes en suelos mediante la acumulación en raíces, adsorción en raíces o precipitación provocada por la presencia de exudados. Este mecanismo conduce a la estabilización física de los suelos a través de una reducción en la movilidad, toxicidad y/o biodisponibilidad de los contaminantes. Las plantas usadas con este fin deben ser especies no comestibles o especies en las que la translocación de metales a los tejidos aéreos sea mínima de tal forma que puedan ser consumidas por animales o humanos (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

b) Fitoextracción

Se refiere a la concentración y translocación, a través de las raíces, de contaminantes metálicos presentes en el suelo hacia diferentes partes cultivables de la planta, dando como resultado la remoción de los metales del sitio (Ann *et al.*, 2005). La fitoextracción de contaminantes metálicos de suelos es, hasta la fecha, uno de los campos con mayores avances científicos y tecnológicos. Para que este mecanismo resulte eficiente, el contaminante debe encontrarse biodisponible y de esta forma puede ser absorbido por la raíz. La translocación hace que el tejido pueda cultivarse fácilmente y disminuye la exposición de los seres humanos a consumir alimentos con metales (Prasad y Freitas, 2003).

c) Fitovolatilización

Implica la captación de contaminantes volátiles (Hg y Se) por plantas y su posterior volatilización o liberación (en su forma original o modificada) a la atmósfera. Este mecanismo puede tener ventajas sobre la fitoextracción debido a que no es necesaria la cosecha ni la disposición de biomasa; sin embargo, es un mecanismo de gran controversia por las implicaciones ambientales de la liberación de metales a la atmósfera. Aunque es una tecnología con potencial para la remediación de suelos contaminados con Hg y Se, es indispensable considerar el empleo de sistemas especializados en la captura de emisiones (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Para definir objetivamente si una planta es fitoextractora o fitoestabilizadora, se utilizan factores cuantitativos como el coeficiente de fitoextracción y el factor de translocación (Mendez y Maier, 2008).

1.7.4 Coeficiente de fitoextracción y factor de traslocación

El factor de bioconcentración (FB) o coeficiente de fitoextracción (CF), se define como la relación entre la concentración del metal en la parte aérea y raíces, con respecto a la concentración total inicial del metal en el medio de crecimiento.

El factor de translocación (FT), se define como la relación entre la concentración del metal en la parte aérea, con respecto a su concentración en las raíces (Mendez y Maier, 2008).

En la Tabla 6 se muestran algunas características clave para definir si una planta es fitoextractora o fitoestabilizadora de metales. Estas definiciones han sido aplicadas a especies de plantas que colonizan sitios contaminados con metales y a plantas que crecen en medios artificiales. Para la fitoextracción, las concentraciones de metales en parte aérea son usadas como criterio para definir si una planta es o no hiperacumuladora, de acuerdo a criterios establecidos previamente (Baker *et al.*, 1989). Mientras que para la fitoestabilización, las concentraciones de los metales en la parte aérea se basan en los límites de toxicidad para animales domésticos (NRC, 2005, citado por Mendez y Maier, 2008). Además el coeficiente de fitoextracción puede ser empleado para saber cuántos ciclos de cultivo se requieren para remover los metales del suelo y dejarlos en niveles aceptables (Zhao *et al.*, 2003).

Tabla 6. Características clave en plantas aptas para fitoextracción y fitoestabilización.

	Fitoextracción	Fitoestabilización
Características generales de las plantas	Rápido crecimiento y mucha biomasa	Perennes y raíces profundas
Coeficiente de fitoextracción	>1	<1
Factor de translocación	>1	<1
Concentración de metales en parte aérea (mg/kg)		
As	≥1 000	≤30
Cd	≥100	≤10
Cu	≥1 000-5 000	≤40
Mn	≥1 000-10 000	≤2 000
Pb	≥1 000-10 000	≤100
Zn	≥10 000	≤500

Fuente: Mendez y Maier, 2008.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, algunos de los contaminantes más frecuentes en las principales zonas mineras son el plomo, cadmio, arsénico y zinc. En áreas rurales y remotas, el plomo en el suelo proviene principalmente de fuentes minerales, éste tiende a acumularse en los suelos, en donde permanece inmóvil durante mucho tiempo. La amplia utilización de este metal, la inexistencia de un proceso de eliminación natural y su elevada vida media, hacen que se acumule en los ecosistemas. Cuando el plomo es inhalado o absorbido por la piel, resulta altamente tóxico para los seres vivos. Después de un cierto tiempo de exposición este metal afecta principalmente a los sistemas endocrino, cardiovascular, respiratorio, inmunológico y gastrointestinal del ser humano.

Por otra parte, el cadmio se introduce al suelo a través de residuos sólidos y de la manufactura de artículos que contienen cadmio. El ser humano puede incorporar el cadmio en el organismo por inhalación. Como consecuencia a la exposición de este metal se puede desarrollar enfisema pulmonar, anemia, alteración del sistema nervioso y osteoporosis. Es además teratogénico y sus compuestos están clasificados como cancerígenos para el ser humano.

Las técnicas tradicionales de remediación del suelo contaminado con metales pesados generalmente involucran prácticas convencionales, como la remoción física del suelo del sitio contaminado, o bien, la minimización del riesgo por exposición. Las técnicas de remediación convencionales tienen como desventajas un alto costo, la destrucción del sitio contaminado y el elevado consumo de energía. Con base en las razones anteriores, surge la necesidad de utilizar técnicas ambientalmente más amigables, como la fitorremediación, que representa además una alternativa económica y más limpia. En general, esta técnica es más apropiada para sitios ligeramente contaminados y poco profundos, utilizando especies de plantas aclimatadas al lugar y a las condiciones geográficas del sitio. Por lo anterior, se considera de gran importancia estudiar plantas nativas de sitios contaminados, con el fin de evaluar su capacidad para acumular plomo y cadmio, particularmente presentes en jales, reduciendo así la potencial exposición de los humanos a la inhalación directa del aire que contiene metales pesados.

3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

Brassica juncea al ser una planta que acumula altas concentraciones de Pb y Cd en medios modelo, es por lo tanto fitorremediadora de jales.

Asphodelus fistulosus, al ser una planta nativa de un sitio contaminado y que acumula altas concentraciones de plomo y cadmio, es por lo tanto fitorremediadora de jales.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Estudiar la acumulación y/o estabilización de plomo y cadmio en *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea* para su uso en la fitorremediación de jales.

4.2 Objetivos específicos

- 1) Muestrear y caracterizar jales con alto contenido de plomo para su uso en ensayos de fitorremediación.
- 2) Propagar y desarrollar plántulas de *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea* en un sistema *in vitro* y en invernadero.
- 3) Evaluar el efecto de diferentes agentes quelantes en la movilización de plomo y cadmio presentes en jales.
- 4) Medir la capacidad de acumulación de plomo y cadmio en raíces y parte aérea de plantas de *A. fistulosus* y *B. juncea* crecidas en jales.
- 5) Evaluar la capacidad fitorremediadora de *A. fistulosus* y *B. juncea*, a través de su índice de tolerancia, coeficiente de fitoextracción y factor de translocación para plomo y cadmio.
- 6) Localizar el destino del Pb en los tejidos de la planta a través de estudios histológicos.

5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL GENERAL

La estrategia experimental general seguida en el desarrollo de este trabajo fue realizada en dos etapas (Figura 4). Durante la primera etapa se llevó a cabo un muestreo de jales en los estados de Hidalgo y Morelos y se realizó la caracterización de las muestras obtenidas, en cuanto al contenido total de EPT. A partir de estos resultados se seleccionó el sitio de estudio (Tlaquiltenango, Mor.) y, con los jales seleccionados, se realizó una extracción secuencial de plomo y cadmio. Posteriormente se evaluó el efecto de diferentes agentes quelantes sobre la movilización del plomo y cadmio contenido en los jales. En la segunda etapa, se crecieron plántulas de *A. fistulosus* y *B. juncea* en condiciones *in vitro*, que fueron adaptadas a condiciones de invernadero en una mezcla agrolita:turba (1:1) y, por último, se transplantaron a los jales del sitio seleccionado con y sin adición del agente quelante seleccionado en la primera etapa.

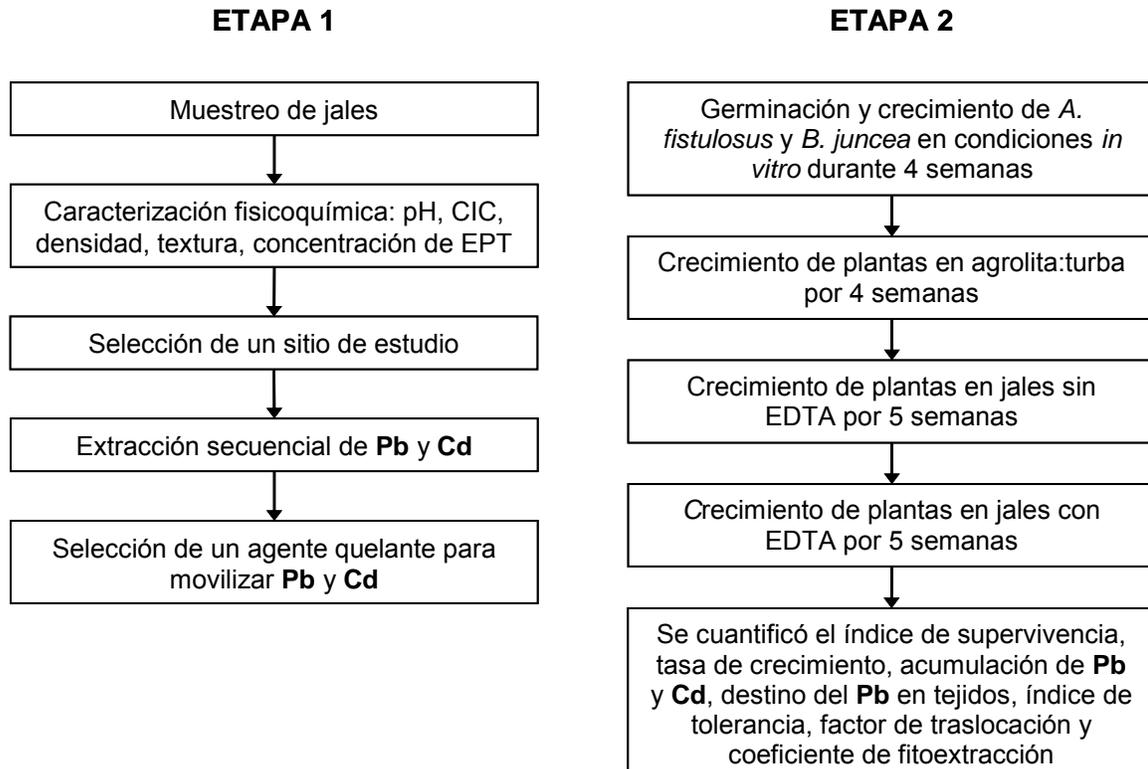


Figura 4. Estrategia general de trabajo realizado durante la parte experimental del presente estudio.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Muestreo jales

Se colectaron muestras de jales en dos sitios: (i) Zimapán, Hidalgo y (ii) Tlaquiltenango, Morelos. En la Figura 5 se muestran imágenes que describen la situación general del sitio muestreado en Hidalgo, así como la contaminación por jales en la zona. En Zimapán se colectaron 7 muestras, de 20 kg cada una. Las primeras 3 muestras se colectaron en la presa “San Miguel” (muestra 1-3) y las muestras restantes, en la presa “Santa María” (muestra 4-7). Las muestras se colectaron con ayuda de una pala, teniendo cuidado de no contaminar la muestra con otros estratos, cada muestra se localizó geográficamente con la ayuda de un GPS. Las muestras se transportaron hasta los laboratorios de la UAM-Iztapalapa a temperatura ambiente en recipientes de plástico cerrados.

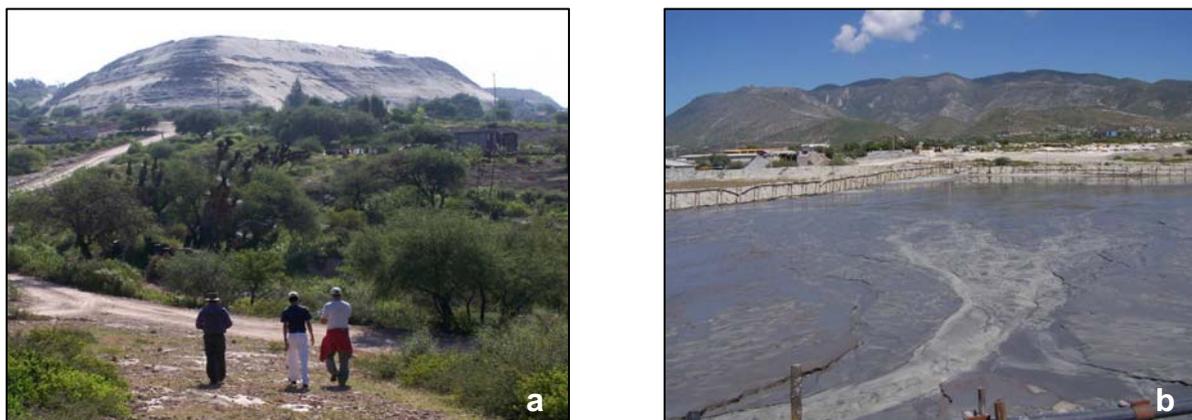


Figura 5. Panorama general del sitio contaminado con jales ubicado en Zimapán, Hidalgo. (a) pila de jales; (b) lodos generados durante el proceso de recuperación de metales.

En Tlaquiltenango, Morelos, se colectaron dos muestras de 20 kg cada una, con ayuda de una pala, teniendo cuidado de no contaminar la muestra con otros estratos. Éstas se denominaron muestra A y B. De manera similar al muestreo anterior, se registraron las coordenadas geográficas de cada uno de los puntos con la ayuda de un GPS y las muestras se transportaron a la UAM-Iztapalapa a temperatura ambiente en recipientes de plástico cerrados. En la Figura 6 se muestran imágenes que describen la situación general del sitio, así como de contaminación por jales en la zona.

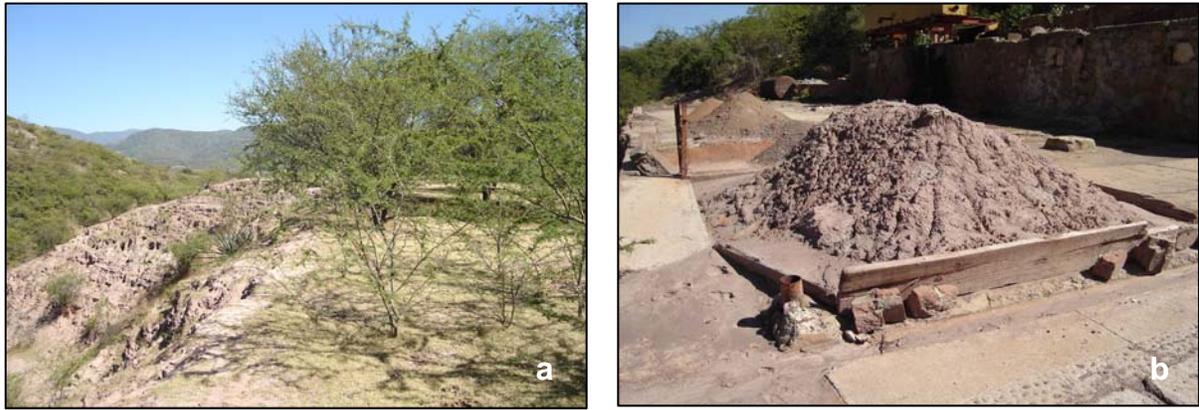


Figura 6. Panorama general del sitio contaminado con jales ubicado en Tlaquiltenco, Morelos. (a) panorama general del sitio; (b) montículo de jales.

6.2 Caracterización fisicoquímica de jales

La caracterización de los jales se realizó considerando que éstos se comportan como un suelo, además se emplearon como sustrato para el crecimiento de las especies estudiadas porque se ha demostrado que contienen nutrientes para el crecimiento biológico (N,P,K) y poco contenido de materia orgánica (Ye *et al.*, 2002; Rosario *et al.*, 2007; Mendez *et al.*, 2007). A continuación se describen los métodos seguidos para la caracterización de los jales. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Preparación de la muestra. Las muestras se secaron a temperatura ambiente durante 2 días. Mediante operaciones sucesivas de desgrumado y homogeneización manual, se obtuvieron muestras del material en estudio con tamaño de partícula menor a 2 mm (10 mallas).

Contenido de humedad. Se pesó aproximadamente 0.5 g de la muestra homogénea y tamizada, y se deshidrató en una termobalanza (MB45, Ohaus) hasta peso constante.

pH. Se determinó con base en el método EPA 9045C para suelos, que consiste en mezclar suelo con agua destilada (relación 1:2.5) durante 10 min. Posteriormente, los jales se filtran o se dejan decantar durante 10 min, y se mide el pH por medio de un potenciómetro.

Capacidad de intercambio catiónico (CIC). La CIC y bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y K^+) de un suelo, se determinan con el uso de una solución de cloruro de calcio (1 N, pH 7.0) como solución saturante. El método consiste en la saturación de la superficie de intercambio con un catión; el exceso de saturante se lava con alcohol etílico; el extracto

obtenido se trata con una solución de cloruro de sodio (1N, pH 7.0). Este parámetro se determinó con base en el método propuesto por Reyes (1996).

Densidad aparente. Se determinó empleando el método de la probeta: se pesó una probeta de 10 mL en una balanza analítica (Ohaus), se agregaron los jales hasta la marca de 10 mL. La base de la probeta se golpeó suavemente 30 veces sobre una superficie plana, se volvieron a adicionar los jales hasta la marca de 10 mL y se pesó. La densidad aparente (DA) por este método se calculó con la siguiente ecuación (Del Valle, 1993):

$$DA \text{ (g/mL)} = \frac{\text{Probeta con muestra (g)} - \text{Probeta vacía (g)}}{10 \text{ mL}}$$

Densidad real. Se determinó siguiendo el método ASTM D854-02 (picnómetro). Para lo anterior, se pesó un picnómetro con tapón (Pyrex), al cual se le agregaron 5 g de jales (S) y nuevamente se pesó. Se aforó 1/3 del picnómetro con agua destilada. Con movimientos suaves se desalojó el aire contenido en la muestra y se dejó reposar por 5 min. El picnómetro se llenó con agua destilada, se registró el peso (S+a) y se desechó el contenido. Posteriormente, se lavó y se aforó nuevamente con agua destilada y se volvió a registrar el peso (A). La densidad real (DR) se calculó de la siguiente manera (Gondoy, 1991):

$$DR \text{ (g/mL)} = \frac{S}{S + A - (S + a)}$$

Espacio poroso (EP). Es la relación entre la densidad aparente (DA) y la densidad real (DR) de un suelo, y se determinó utilizando la siguiente relación (Gondoy, 1991):

$$EP \text{ (\%)} = \left(1 - \frac{DA}{DR}\right) \times 100$$

Capacidad de campo (CC). Se refiere a la cantidad máxima de agua que puede retener una muestra de suelo, sin presentar anegamiento. Esta se determinó pesando 100 g de jales en un recipiente con pequeñas perforaciones en la base, se agregó agua desionizada hasta obtener la completa humectación de los jales. Después se dejó drenar el exceso de agua por 48 h y se pesó 1 g de los jales húmedos, previamente colocado en un crisol a

peso constante. La muestra se colocó en una estufa por 48 h a 105 °C, y en seguida se colocó en un desecador y se volvió a pesar, se calculó de la siguiente manera (Reyes, 1996):

$$\text{HCC (\%)} = \frac{\text{Peso muestra húmeda} - \text{peso muestra seca}}{\text{Peso muestra húmeda}} \times 100$$

Materia orgánica. El método consiste en una combustión húmeda de la materia orgánica con una mezcla de dicromato y ácido sulfúrico. Después de la reacción se mide colorimétricamente el cromato reducido. Se realizó de acuerdo al método de Walkley-Black (Reyes, 1996).

Textura. Este método está basado en cuatro principios: (i) oxidación de la materia orgánica, (ii) dispersión, (iii) agitación y (iv) sedimentación. Se determinó por el método del hidrómetro de Bouyoucos ASTM No.152H.

6.3 Contenido total de elementos potencialmente tóxicos en jales

El contenido total de EPT en las muestras de Zimapán se determinó en el laboratorio “Intertek Testing Systems de México empleando el método Espectrometría de Absorción Atómica (EAA).” Para el análisis, se generaron dos mezclas compuestas: la primera, con las muestras uno a tres (San Miguel) y la segunda, con las muestras cuatro a siete (Santa María).

El contenido de EPT en las muestras de Tlaquiltenango, se determinó empleando el método de EAA. Para estas muestras, se emplearon cinco mezclas, derivadas de las fracciones A y B. De aquí en adelante los **jales A** se refieren a los jales identificados en la jerga de la minería como colas, y los **jales B** se refieren a los jales denominados cabezas (Tabla 7). Las mezclas de los jales se realizaron para evaluar las diferentes concentraciones de plomo y cadmio. Para el análisis del contenido de EPT en las muestras de Tlaquiltenango, cada mezcla (0.5 g) se homogenizó cuidadosamente, después a cada una se le adicionó 10 mL de HNO₃ concentrado para su digestión en un digestor de microondas (MARS-Xpress, CEM) operado a 1600 W con una rampa de temperatura a 175°C por 10 min, de acuerdo al método EPA 3051. Una vez realizada la digestión, cada muestra se dejó enfriar, se filtró con membranas de 0.45 µm (GN-6 Metricell) y se aforó a 25 mL con agua desionizada (18 MΩ/cm). La concentración de EPT se determinó por espectrometría de absorción atómica (EAA) usando el método de flama en un espectrómetro Spectra AA 200, Varian. Se

emplearon estándares certificados (J.T. Baker) y cada una de las muestras se realizó por cuadruplicado.

Tabla 7. Mezclas de jales utilizadas para los ensayos.

Muestra	Jales A	Jales B
1	700 g	0 g
2	525 g	125 g
3	350 g	350 g
4	125 g	525 g
5	0 g	700 g

6.4 Extracción secuencial de plomo y cadmio en jales

La extracción química secuencial se basa en la exposición sucesiva de una misma muestra sólida a soluciones de características extractivas diferentes. El procedimiento así como los agentes de extracción empleados se realizaron de acuerdo con el procedimiento modificado de Pagnanelli *et al.* (2004):

- 1) A una muestra de 2.5 g (mezclas 1 y 5, Tabla 7) se les adicionó 45 mL de acetato de amonio 1M y se ajustó a pH 5 con ácido acético concentrado. Las muestras se dejaron en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. La suspensión se centrifugó a 3 500 rpm por 10 min y se filtró con papel Whatman 41. La fase líquida se conservó para su análisis por EAA.
- 2) Los sólidos residuales del paso (1) se adicionaron con 22.5 mL de hidrocloreuro de hidroxilamina 1M y 22.5 mL de ácido acético (25%). Después de 24 h de agitación a temperatura ambiente la separación de la muestra se realizó por centrifugación. La suspensión se filtró y la fase líquida se conservó para su análisis por EAA.
- 3) Los sólidos residuales del paso (2) se adicionaron con 12.5 mL de HCl 0.1M y se agitaron durante 24 h a temperatura ambiente. La separación de la muestra se realizó por centrifugación y la suspensión se filtró. La fase líquida se conservó para su análisis por EAA.
- 4) Los sólidos residuales del paso (3) se adicionaron con 12.5 mL de NaOH 0.5M y se agitaron durante 24 h a temperatura ambiente. La muestra se centrifugó y filtró. La fase líquida de esta muestra se colocó en baño María hasta sequedad. Una vez que

la muestra se secó, se le agregó 4 mL de HNO₃ y 2 mL de H₂O₂ para su digestión de acuerdo al método EPA 3051 y la solución obtenida se analizó por EAA.

- 5) Los sólidos residuales del paso (4) fueron tratados con 12.5 mL de HNO₃ 8 M y se digirieron empleando el método EPA 3051 y la solución se analizó por EAA.
- 6) El contenido total de plomo en las muestras originales se realizó de acuerdo al método EPA 3051.

6.5 Estudios para la selección de un agente quelante

Con el objeto de encontrar un agente quelante que ayudara a la movilización de plomo y cadmio, se emplearon cinco agentes quelantes: ácido etilen diamino tetra acético (EDTA) y ácidos cítrico, oxálico, tartárico y fosfórico. Cada ácido se aplicó en concentraciones de 0.4 mM y 5 mM del agente quelante a una muestra de 50 g de jales con una concentración inicial de 1 200 mg Pb/kg. Además de las muestras adicionadas con los cinco agentes quelantes, se corrió un control con agua meteórica (H₂O-CO₂). Después de 24 h de contacto se determinó el contenido de metales solubles o lixiviables, empleando agua meteórica para la extracción y siguiendo el procedimiento de la NOM-147 SEMARNAT/SSA1-2004. Este procedimiento permite lixiviar EPT a partir de suelos con agua en equilibrio con CO₂. La solución H₂O-CO₂ se preparó burbujeando aire en agua destilada hasta obtener un pH de 5.5 ± 0.2. La muestra con los jales se mezcló (~120 rpm) con H₂O-CO₂ (relación 1:20), durante 18 h a temperatura ambiente. Una vez transcurridas las 24 h, la fase acuosa se separó de los sólidos por filtración (0.45 µm) y los metales solubles se cuantificaron por EAA, cada una de las muestras se realizó por triplicado.

6.6 Especies en estudio

Los estudios se realizaron con dos especies vegetales: *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea*. Las semillas de *A. fistulosus* se recolectaron en los alrededores de un sitio contaminado con jales (Jesús María, Guanajuato). Las semillas de *B. juncea* se adquirieron en un expendio especializado de la Ciudad de México. Las semillas se conservaron a temperatura ambiente y en la obscuridad. A continuación se muestra parte de la información relevante de las especies en estudio.

a) *Asphodelus fistulosus* (L)

Conocida como asfodelo, cebolleta, gamonita, fue introducida del viejo mundo; en México se encuentra en: Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Nuevo León, Querétaro, San Luís Potosí, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz (Villaseñor *et al.*, 1998). Su estatus migratorio es como exótica naturalizada. Es una hierba perenne de rizomas cortos, amacollada, como pasto o cebolla. Llega a medir hasta 65 cm de altura, tiene un tallo subcilíndrico de 8 a 25 cm de largo, hojas lineares, hasta de 25 cm de longitud y de 2 a 3 mm de diámetro, fistulosas (hueca en medio con los extremos cerrados, como popote). Sus flores son anchamente campanuladas, blancas con una nervadura media café-rojiza. El fruto es una cápsula subglobosa, de 3.5 a 5.5 mm de longitud, de color paja, a menudo con tonos rojizos; semillas de \pm 3 mm de longitud por 2.2 a 2.5 mm de ancho, café-grisáceas, con o sin líneas de color café oscuro de distribución variable. Su floración es a finales de invierno principio del verano (CONABIO, 2007). Se distribuye en regiones de matorrales xerófilos, selva baja y pino-encino seco, además se encuentra en suelos pobres y terrenos herbosos o arenosos.

Datos taxonómicos de acuerdo a Rzedowski *et al.* (2001):

Reino *Plantae*

Subreino *Tracheobionta*

División *Magnoliophyta*

Clase *Liliopsida*

Subclase *Liliidae*

Orden *Liliales*

Familia *Liliaceae*

Género *Asphodelus*

Especie *Asphodelus fistulosus*

b) *Brassica juncea* (L.) Coss

Conocida como mostaza parda, mostaza oriental, mostaza de la China, mostaza India, es originaria de China e India. Se encuentra distribuida en México en: Baja California Norte, Chiapas, Guanajuato, Jalisco, Nuevo León, Veracruz. Su estatus migratorio en México es como exótica naturalizada. Es una hierba perenne, por lo general crece como una anual o bienal, llega a medir hasta 130 cm, tiene un tallo cilíndrico y glauco (con una capa de cera),

ramificado, posee hojas inferiores con pecíolos largos, de 10 a 25 cm de largo; las hojas superiores con o sin pecíolos, alternas, oblongo-elípticas, lanceoladas o lineares. Sus flores son bisexuales 5 a 12 mm de largo, sépalos oblongos, pétalos de 6 a 10 mm de largo de color amarillo brillante con 6 estambres. Además los frutos son pedicelos delgados, 1 a 1.5 cm de largo, silicuas glabras y cilíndricas, extendidas a erectas, de 3 a 6 cm de largo, las semillas son globulares, de 1.5 a 2 mm en diámetro, café oscuro (Marzocca, 1976 y Rollins, 1993). Las plántulas son cotiledones conduplicados y su raíz es napiforme. En su hábitat se porta como arvense y ruderal, se encuentra en suelos con pH de 4.3 a 8.3.

Datos taxonómicos:

Reino *Plantae*

Subreino *Tracheobionta*

División *Magnoliophyta*

Clase *Magnoliopsida*

Subclase Dilleniidae

Orden *Brassicales*

Familia *Brassicaceae*

Género *Brassica*

Especies *Brassica juncea*

6.6.1 Pretratamiento de las semillas

Las semillas de las dos especies se seleccionaron manualmente eliminando las dañadas. Las semillas de *A. fistulosus* se escarificaron mecánicamente mediante un pequeño corte en la testa para romper su estado de latencia. Las semillas de cada especie se colocaron dentro de un papel filtro, el cual se sumergió en solución con detergente comercial (2%) durante 30 min con agitación constante y se desinfectaron, bajo condiciones estériles, como sigue (Salas, 2007).

- 1) Las semillas de *A. fistulosus* se sumergieron en una solución de etanol al 70% (v/v) por 30 s, y las de *B. juncea* se trataron con etanol al 80% (v/v) durante 60 s.
- 2) Posteriormente, ambas especies se sumergieron en hipoclorito de sodio al 10% (v/v) y 0.1 mL de Tween-20 por 30 min. Las semillas se enjuagaron tres veces con agua desionizada estéril.

Una vez realizado el pretratamiento, las semillas se sembraron en medio Murashige & Skoog ([MS] Murashige and Skoog, 1962) para su germinación en condiciones *in vitro*.

6.6.2 Germinación y propagación de las plantas en cultivos *in vitro*

Para la germinación *in vitro* de las semillas de *A. fistulosus* y *B. juncea* se utilizó medio Murashige & Skoog (4.4g/L [Sigma]) con sacarosa (10 g/L [Sigma]) y Phytigel (1 g/L [Sigma]), como agente gelificante. El pH del medio se ajustó a 5.8 con NaOH 0.01 N. El medio se vació a tubos de cultivo de vidrio (2.5 x 15 cm) posteriormente los tubos se esterilizaron a 120°C (15 psi) por 15 min, después se sembraron las semillas bajo condiciones estériles. Las semillas se germinaron y crecieron en una cámara controlada durante un mes, a 25°C con un fotoperiodo de 16 h.

6.6.3 Propagación de plantas

Después de un mes de incubación, las plántulas de cada especie se transplantaron de los tubos a una mezcla de agrolita:turba (1:1) en macetas de 1 kg. Las macetas se mantuvieron bajo condiciones de invernadero (37 ± 5°C y fotoperiodos de 12 h) durante un mes. Posteriormente las plantas fueron lavadas con agua desionizada y trasplantadas a macetas que contenían las mezclas de jales (Tabla 7). Las concentraciones iniciales de plomo fueron: 1 200, 2 500, 5 000, 6 200 y 7 100 mg Pb/kg de jales, utilizando como control la mezcla de agrolita:turba sin plomo. Los experimentos se prolongaron hasta por 10 semanas en condiciones de invernadero. Después de 5 semanas, a cada maceta se le adicionó una solución 1 mM de EDTA, ajustando el volumen para obtener 0.001 mol de EDTA por kg de jales (base seca). De esta manera, las plántulas crecieron 5 semanas en ausencia y 5 semanas en presencia de EDTA.

Durante el desarrollo del experimento se llevaron a cabo las siguientes prácticas, con la finalidad de que el crecimiento de las especies no estuviera influenciado por otros factores: (i) riego cada tercer día de forma manual, aplicando agua desionizada con una regadera evitando cualquier exceso de humedad; (ii) control de plagas, se aplicó fungicida Bravo 720 a una dosis de 3 mL en cada maceta en una sola aplicación cada dos semanas después de propagadas en el medio turba:agrolita; (iii) fertilización, una sola aplicación durante el ciclo de cultivo; a cada maceta se le adicionaron 15 mL de la solución de Long-Ashton (Tabla 8).

Tabla 8. Composición de la solución Long-Ashton.

Macronutrientes	mg/L
KNO ₃	808
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	944
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	184
MgSO ₄ 7H ₂ O	368
Micronutrientes	
MnSO ₄ 4H ₂ O	2.23
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.29
H ₃ BO ₃	3.10
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ 4H ₂ O	1.76
Fe ₂ SO ₄ (1%)	2 mL

6.6.4 Tasa máxima de crecimiento

Se realizó midiendo la altura de cada una de las plantas crecidas en los jales (7 para cada concentración empleada con y sin EDTA) una vez por semana. Los resultados se graficaron, para obtener una función polinomial, (se aceptaron las funciones con R² cercano a uno) se derivaron, se igualaron a cero, se resolvió para un valor de altura para satisfacer la función respecto al tiempo; este resultado fue la tasa máxima de crecimiento.

6.7 Acumulación de plomo y cadmio en tejidos vegetales

Una vez concluido el tiempo de cultivo (10 semanas) se extrajeron las plantas completas crecidas en las macetas con las diferentes mezclas de jales. El tejido vegetal fue separado en raíz y parte aérea. A las raíces se les aplicó el siguiente tratamiento con el objeto de eliminar los metales acumulados de manera extracelular (i) lavado con agua desionizada por 20 min, (ii) tres lavados con una solución de EDTA 10 mM durante 20 min. La parte aérea y raíces de cada especie se deshidrataron en una estufa (WTB, Binder) a 60°C por 24 h. Las muestras secas se molieron y se guardaron en una bolsa de papel a temperatura ambiente para su posterior análisis.

Para determinar la acumulación de Pb y Cd en tejido vegetal (parte aérea y raíz), se pesó 0.1 g (base seca) de parte aérea y raíces, por separado, se les adicionó 5 mL de HNO₃ concentrado y 4 mL de agua desionizada para su digestión por microondas (MARS-Xpress, CEM) a 1600 W durante 15 min. Las muestras se filtraron empleando una membrana de

0.45 μm y se aforaron a 10 mL con agua desionizada. La concentración de plomo y cadmio en los tejidos se determinó por EAA. Se emplearon estándares certificados (J.T. Baker) y cada muestra se analizó por septuplicado.

6.8 Estudios histológicos

Se realizaron con plantas crecidas en presencia de 1 200 mg de Pb/kg jales y, para las plantas crecidas en ausencia del metal, se utilizaron las crecidas en macetas con agrolita:turba. La parte aérea y raíces fueron tratadas de la misma forma que se describe en el punto 6.7 hasta antes de la deshidratación. El tratamiento de las muestras fue el siguiente:

a) Reactivos

Para el tratamiento de muestras se prepararon las siguientes soluciones: (i) solución saturada de rodizonato de sodio (37.4 g/L); (ii) solución de tartrato de sodio y potasio 0.1 M; (iii) alcohol 50%; (iv) alcohol 70% y (v) solución de sacarosa 320 mM.

b) Tinción y fijación de los tejidos vegetales

Los tejidos de raíces y parte aérea fueron cortados con un bisturí y colocados en la solución saturada de rodizonato de sodio por 20 min. Posteriormente los tejidos se incorporaron a la solución de tartrato de sodio y potasio, donde permanecieron por 5 min. Después, se enjuagaron con agua desionizada hasta eliminar el exceso del colorante. Enseguida se sumergieron en alcohol al 50% por 5 min. Por último, los tejidos se almacenaron en alcohol al 70% durante 24 h (Tung y Temple, 1996).

c) Congelación y corte de los tejidos vegetales

Los tejidos tratados se colocaron en la solución de sacarosa 320 mM y se dejaron en refrigeración por 24 h, posteriormente fueron colocados en la platina del criostato (-20°C) en donde se realizaron los cortes. Los cortes de raíces y parte aérea se colocaron en un portaobjetos previamente tratado con grenetina al 1%. Cada muestra se observó en un microscopio óptico (HBO50, Axioskop Zeiss).

6.9 Estimación de índices y coeficientes

6.9.1 Índice de Tolerancia

El índice de tolerancia, es una medida de las adaptaciones que tienen algunas especies para crecer en lugares contaminados con metales, se obtuvo relacionando la longitud de las raíces de las plantas cultivadas en presencia de metales con la longitud de las raíces de plantas cultivadas en ausencia de metales, como sigue (Yu-Lin *et al.*, 2007):

$$\text{Índice de tolerancia (IT)} = \left(\frac{\text{Longitud de la raíz con metales}}{\text{Longitud de la raíz sin metales}} \right) \times 100$$

6.9.2 Coeficiente de fitoextracción y factor de translocación

El coeficiente de fitoextracción, indica la capacidad de la especie para acumular los metales del suelo, se obtuvo dividiendo la suma de la concentración de metales en la parte aérea más la de raíces entre la concentración inicial de metales en el material donde crecieron, como sigue (Mattina *et al.*, 2003):

$$\text{Coeficiente de fitoextracción (CF)} = \frac{[\text{Metal}] \text{ en parte aérea} + [\text{Metal}] \text{ en raíces}}{[\text{Metal}] \text{ inicial en jales}}$$

El factor de translocación, indica la capacidad de la planta para translocar los metales a la parte aérea. Para estimar este factor, se dividió la concentración de metales en la parte aérea entre la concentración encontrada en la raíz (Mattina *et al.*, 2003):

$$\text{Factor de translocación (FT)} = \frac{[\text{Metal}] \text{ en parte aérea}}{[\text{Metal}] \text{ en raíces}}$$

6.10 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), con el paquete estadístico NCSS-2000, versión 2001. Las medias obtenidas en los diferentes tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la selección de cualquier tecnología para la remediación de un sitio contaminado con metales, es indispensable contar con información acerca de las características fisicoquímicas y mineralógicas de los jales, así como del contenido, tipo y especiación de los metales presentes, ya que son estos factores los que inciden de manera directa sobre la eficiencia de una tecnología. Además, es de gran importancia determinar la capacidad de las plantas para tolerar y acumular metales pesados, en el caso de las tecnologías de fitorremediación.

En la siguiente sección se exponen los resultados de la primera etapa del presente estudio: (i) caracterización fisicoquímica de las muestras de Zimapán y Tlaquiltenango; (ii) cuantificación del contenido de EPT y (iii) selección de un agente quelante para la movilización de plomo y cadmio.

7.1 Descripción de los sitios de estudio

7.1.1 Zimapán, Hidalgo

El municipio de Zimapán se localiza a 144 kilómetros de la Ciudad de Pachuca. En la Tabla 9 se muestra la altura sobre el nivel del mar y las coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en Zimapán, Hidalgo.

Tabla 9. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en Zimapán, Hidalgo.

Muestra	Norte	Oeste	Altura (msnm)
1	20° 44' 12.7"	99° 24' 05.9"	1756
2	20° 44' 0.56"	99° 23' 54.4"	1752
3	20° 44' 07.2"	99° 23' 55.4"	1774
4	20° 43' 36.5"	99° 23' 50.1"	1680
5	20° 43' 36.9"	99° 23' 50.6"	1690
6	20° 43' 34.9"	99° 23' 48.4"	1674
7	20° 43' 34.3"	99° 23' 48.0"	1676

Muestras 1-3: San Miguel; muestras 4-7: Santa María

7.1.2 Tlaquiltenango, Morelos

El municipio de Tlaquiltenango es el de mayor extensión territorial que integra el estado de Morelos. En la Tabla 10 se muestra la altura sobre el nivel del mar y las coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en este municipio.

Tabla 10. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en Tlaquiltenango, Morelos.

Muestra	Norte	Oeste	Altura (msnm)
Jales A	18° 26' 20.0"	99° 01' 52.2"	1020
Jales B	18° 26' 17.6"	99° 01' 57.9"	1020

Ver apartado 6.3 para la definición de las muestras.

7.2 Caracterización fisicoquímica de jales

En la Tabla 11 se resumen las variables evaluadas para la caracterización fisicoquímica de las muestras de Zimapán.

Tabla 11. Caracterización fisicoquímica de muestras de jales procedentes de Zimapán, Hidalgo.

Muestra	pH	Humedad (%)	ρ real (g/cm ³)	Capacidad de campo (%)	Textura (%)		
					Arena	Limo	Arcilla
1	7.53	1.61	2.91	1.43	78.68	16.99	4.33
2	7.33	1.42	2.92	2.53	87.01	9.07	3.91
3	7.52	1.74	2.81	3.59	82.35	15.81	1.83
4	6.49	1.19	2.81	2.69	49.04	38.97	11.99
5	7.11	1.23	3.43	1.54	76.36	13.32	10.32
6	7.45	2.64	2.99	0.71	81.35	11.99	6.66
7	7.30	1.89	3.10	1.63	62.20	27.48	10.33

Muestras 1-3: San Miguel; muestras 4-7: Santa María

El pH afecta la solubilidad y disponibilidad de macro y micronutrientes, la movilidad de metales y la reactividad de minerales; generalmente, los metales son móviles a pH ácido (González *et al.*, 2006). En este trabajo, el pH que se observó en todas las muestras se aproxima a la neutralidad, por lo cual puede esperarse que los metales en estudio en los jales de Zimapán se encuentren relativamente estables. Sin embargo, Armienta *et al.*(2005) mencionan que aunque los metales no presenten signos de movilidad, este proceso puede llegar a presentarse debido a factores como el grado de oxidación del depósito, su

profundidad y la proporción relativa de minerales con mayor potencial de generación de acidez respecto a aquellos capaces de neutralizarla.

El suelo, como todo cuerpo poroso, tiene dos densidades: la real (densidad media de partículas sólidas) y la aparente, que refleja la compactación y facilidad de circulación de agua y aire. En la Tabla 11 se puede observar que la densidad real para las 7 muestras presentaron un valor superior a 2.65 g/cm³, lo que sugiere que en las muestras puede haber minerales pesados como magnetita, epidota, zircón, turmalina y hornblenda (Reyes, 1996).

La capacidad de campo (CC) es la cantidad de agua que retiene un suelo después de saturarse con agua de lluvia o riego (después de dos o tres días). Los jales mostraron valores de CC inferiores a 4%, lo cual concuerda con la textura predominante, que fue arena, esto se debe a que la textura del suelo es una propiedad estrechamente relacionada con la retención de humedad del suelo (Reyes, 1996).

En la Tabla 12 se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica de las muestras de Tlaquiltenango. Los valores de pH indican que, en principio, los metales contenidos en los jales no son móviles, debido a valores próximos a la neutralidad. Estos valores de pH pueden deberse a reacciones con carbonatos en los jales, lo cual puede ser explicado si se considera que los jales proceden de minerales que están normalmente asociados con calcita (González *et al.*, 2006). Asimismo, se puede observar que los espacios porosos en las muestras son propios de materiales porosos (56.6% y 54.9%) ricos en arenas y que retienen poca cantidad de agua.

Tabla 12. Caracterización fisicoquímica de muestras de jales procedentes de Tlaquiltenango, Morelos.

Muestra	pH	Humedad (%)	Espacio poroso (%)	Capacidad de campo (%)	CIC (meq/100 g)	Textura (%)			Materia orgánica (%)
						Arena	Limo	Arcilla	
Jales A	7.74	1.44	56.6	1.38	29.85	64.9	29.9	5.3	1.18
Jales B	7.12	3.25	54.9	1.04	57.30	59.9	22.5	17.7	0.59

Para la definición de las muestras, ver sección 6.3

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se refiere a la carga iónica total del complejo de cambio (materia orgánica y arcillas) activo en la adsorción de iones. Es la suma de todos los cationes intercambiables (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ y Al³⁺) que el material puede adsorber a un pH determinado, y equivale a la medida del total de sus cargas negativas. La importancia de esta determinación, radica en que la mayoría de los metales se comportan como cationes y son sorbidos en materiales con carga neta negativa, siendo éste el

principal mecanismo de retención de metales como Cd, Pb y Zn (Velasco *et al.*, 2004). Para las muestras A y B, se encontraron valores de 29.9 y 57.3 meq/100 g, respectivamente. Estos valores indican que los jales podrían, incluso, ser fértiles. Por ejemplo, Reyes (1996), reportó que la CIC en el suelo es un claro índice de su fertilidad ya que suelos con alta CIC (> 25 meq/100 g) representan una reserva o depósito de nutrimentos que puede cederse a la solución del suelo a medida que son consumidos por las plantas. En la Tabla 12 se puede observar que la textura que predomina en los jales es la arena y que el contenido de materia orgánica es menor al 2%. Estos resultados son similares a los reportados por Ye *et al.* (2002), en donde mencionan que los jales procedentes de una provincia en China tuvieron entre 0.6 y 1.8% de materia orgánica. Por otro lado, Rosario *et al.* (2007), demostraron que los jales contienen una gran cantidad de arena y poca materia orgánica, además mencionan que los jales pueden ser empleados como soporte biológico de crecimiento, debido a que además contienen N, P y K.

7.2.1 Contenido de elementos potencialmente tóxicos

Debido a que en México no existen normas específicas para metales pesados en jales, en este trabajo se emplearon los conceptos definidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece los criterios para determinar las concentraciones máximas permitidas en suelos contaminados con arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio. En la Tabla 13, se muestran los límites de algunos EPT establecidos en la citada norma. Se observa que los jales de Zimapán contienen elevadas concentraciones de arsénico, plomo y cadmio, algunas de las cuales superan los límites propuestos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. El plomo contenido en la muestra 1 duplica los límites permitidos por la NOM. En la muestra 2 se aprecia un valor 5 veces mayor respecto al permitido para uso industrial (750 mg/kg). Las concentraciones de cadmio resultaron aproximadamente el doble del límite permisible para uso agrícola/residencial (37 mg/kg) para la muestra 1, y cerca de tres veces para la muestra 2. Sin embargo, las concentraciones de cadmio en ambas muestras no rebasan los límites permitidos para el uso industrial de un suelo (450 mg/kg). Ninguna de las dos muestras analizadas rebasó los límites establecidos para cromo y mercurio.

El análisis de estas muestras también indicó concentraciones de Fe de hasta 54 397 mg/kg jales y 28 303 mg Zn/kg jales (datos no mostrados). En el caso del arsénico, se aprecia que los valores de los jales sobrepasaron 83 veces el valor de la norma. Armienta *et al.* (2005) reportan que en Zimapán se han identificado minerales primarios como calcita, cuarzo,

pirita y arsenopirita, de los cuales éste último es el mineral que muestra un alto contenido de arsénico. Además se encontraron minerales secundarios como minerales de Fe, yeso y jarosita.

Con los resultados anteriores se puede decir que la caracterización fisicoquímica y el contenido de EPT de los jales es un aspecto fundamental para lograr una evaluación realista de la peligrosidad y movilidad de los metales, estos resultados permitirán establecer un sistema de remediación ambiental.

Tabla 13. Contenido de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en muestras de jales procedentes de Zimapán, Hidalgo, y comparación con los límites máximos permisibles establecidos en la NOM 147 SEMARNAT/SSA1-2004.

Elemento	Uso agrícola/residencial*	Uso industrial*	Muestra compuesta 1	Muestra compuesta 2
Cadmio	37	450	66.1	137.1
Cromo (VI)	280	510	34.3	44.2
Mercurio	23	310	0.1	0.1
Plomo	400	750	1595.6	3712.7
Arsénico	20	260	21 948.7	35 616.9

Nota: Todos los resultados están referidos en miligramos del contaminante por kilogramo de jales base seca. *Valores establecidos en la NOM 147 SEMARNAT/SSA1-2004. Muestra compuesta 1: San Miguel; muestra compuesta 2: Santa María

Por otra parte, se presentan los resultados del contenido de EPT en los jales de Tlaquiltenango, Morelos. Aunque los jales son residuos, en este estudio se consideraron los criterios de limpieza para suelo industrial y residencial establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, debido a que la población de Huautla, Morelos, se encuentra a unos 2 500 metros de la mina abandonada. En la Tabla 14 se puede observar que los jales contienen elevadas concentraciones totales de plomo (hasta 7 100 mg/kg) y cadmio (hasta 90 mg/kg), superando los límites permisibles establecidos en la NOM. Los altos contenidos de plomo total pueden relacionarse directamente con el tipo de minerales explotados en la zona. La Compañía Rosario de México, S.A., explotaba principalmente minerales azufrados de Pb y Ag, como acantita (Ag_2S), calcita ($Ca(CO_3)$), calcocita (Cu_2S), galena (PbS) (The Mineral Database, 2004). Las concentraciones de cromo y níquel encontradas en las muestras están dentro de los límites permitidos por la norma. Se encontraron hasta 17 134 mg Fe/kg jal y 16 468 mg Zn/kg jal.

Tabla 14. Contenido de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en muestras de jales procedentes de Tlaquiltenango, Morelos, y comparación con los límites máximos permisibles establecidos en la NOM 147 SEMARNAT/SSA1-2004.

Elemento	Uso agrícola/residencial*	Uso industrial*	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Cadmio	37	450	9.7	27.5	55.8	76.9	92.4
Cromo (VI)	280	510	3.0	3.8	5.7	8.0	8.5
Níquel	1 600	20 000	8.2	8.2	10.4	11.4	12.3
Plomo	400	750	1 195.3	2 460.6	4 971.9	6 177.6	7 099.9

Nota: Todos los resultados están referidos en miligramos del contaminante por kilogramo de jales base seca.

*Valores establecidos en la NOM-147 SEMARNAT/SSA1-2004.

Para la definición de las muestras, ver sección 6.3

Con los resultados anteriores se puede decir que las concentraciones de metales en los jales de Zimapán y Tlaquiltenango dependen de la composición original del mineral. Con base en los resultados presentados, puede decirse que las concentraciones de algunos EPT en los jales muestreados superan los límites establecidos en la NOM, por lo que representan un riesgo permanente para la salud humana y el ambiente. En consecuencia, surge la necesidad de conocer con mayor detalle la naturaleza de los contaminantes, es decir, la movilidad de las especies solubles y reactivas de Pb y Cd presentes en los jales, que permitan tratar y remediar estos sitios mineros.

7.2.2 Extracción secuencial de plomo y cadmio

La determinación de los perfiles de especiación de un EPT, es decir, del reparto de un EPT entre las distintas fracciones de un sólido presentes en el suelo, permite conocer el potencial de movilidad de los metales de interés e inferir su disponibilidad biológica o biodisponibilidad (Raksasataya *et al.*, 1996). Una manera de determinar indirectamente el potencial de movilidad y la biodisponibilidad de un EPT (plomo y cadmio) presente en un jal es la extracción secuencial. La especiación de metales pesados con agentes extractantes selectivos también proporciona información adicional sobre las reacciones y el comportamiento de éstos en el suelo (Nirel *et al.*, 1990). Por ejemplo, si se asume que la biodisponibilidad está relacionada con la solubilidad, entonces se podría decir que la biodisponibilidad del plomo en una muestra decrece en el siguiente orden: plomo soluble en agua > plomo intercambiable > plomo unido a óxidos de Fe y Mg > plomo unido a materia orgánica > plomo unido a azufre > plomo residual. En la Figura 7 se muestran las fracciones asociadas al plomo en las muestras de jales A y B.

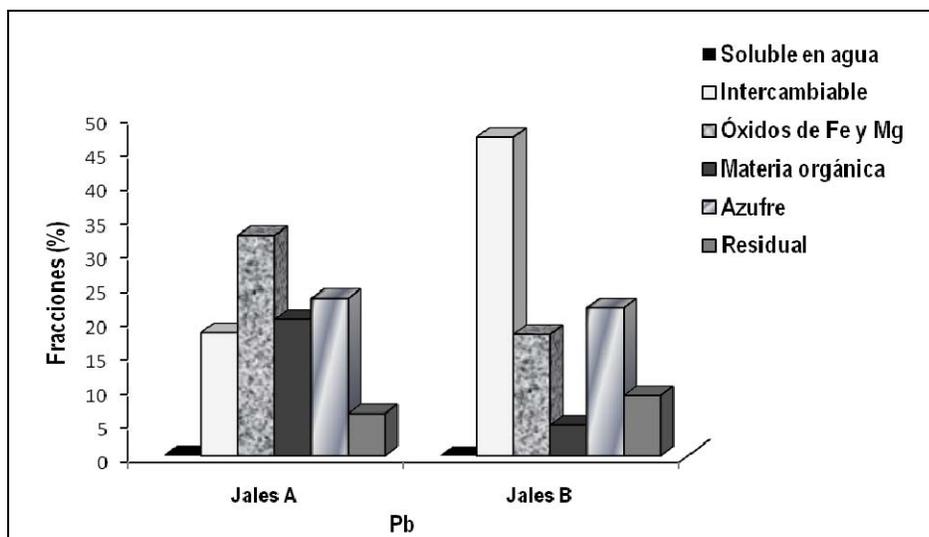


Figura 7. Plomo asociado con diferentes fracciones en muestras de jales (A y B) de Tlaquiltenango, Morelos.

En ambas muestras, el plomo soluble en agua representa menos del 1% sugiriendo que, bajo condiciones naturales de precipitación, el plomo que puede movilizarse es mínimo. Pagnanelli *et al.* (2004) mencionan que si la fracción intercambiable y la de óxidos de Fe y Mg asociados al plomo son mayores al 10%, se puede considerar que los iones de plomo presentan una gran movilidad, por ejemplo, lixiviación natural abundante. En nuestros resultados se encontró 18% y 46% de plomo intercambiable en las muestras de jales A y B, respectivamente, y el plomo unido a óxidos de Fe y Mg en estas mismas muestras fue de 32% y 17%. Lo anterior sugiere que, bajo condiciones naturales de precipitación, el plomo en estas muestras se encuentra móvil y posiblemente será transferido a los sedimentos. La fracción de plomo unido a azufre en ambas muestras es alrededor del 23%, lo cual puede atribuirse a que los jales proceden de un yacimiento natural que contiene sulfuro de plomo y plata (Velasco *et al.*, 2004).

En la Figura 8 se muestran las fracciones asociadas al cadmio en las muestras de jales de Morelos (A y B). Se observa que el 88% y 58% del cadmio, se encuentra como fracción intercambiable en los jales A y B, respectivamente. Estos resultados muestran que la fracción de plomo intercambiable (Figura 7) es menor que la fracción intercambiable del cadmio (Figura 8), esto sugiere que el plomo se encuentra menos biodisponible que el cadmio.

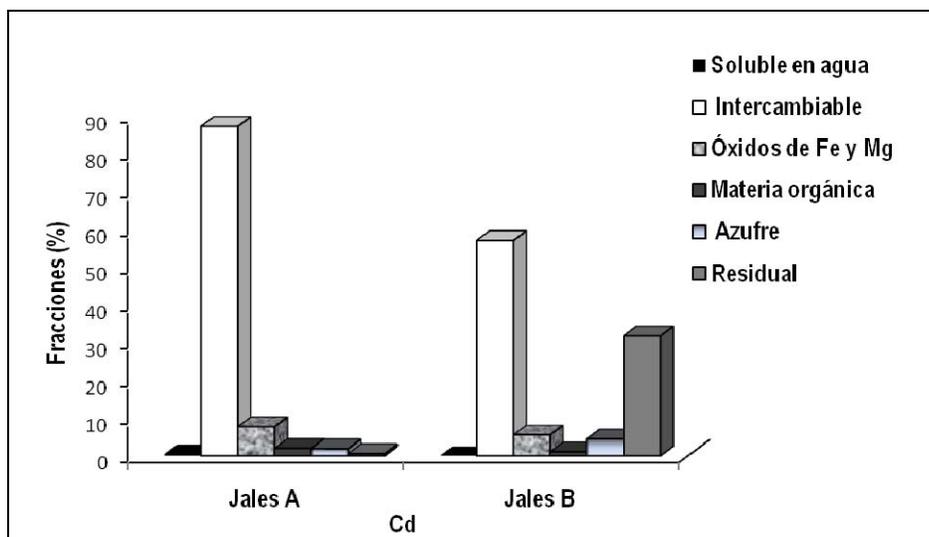


Figura 8. Cadmio asociado con diferentes fracciones en muestras de jales (A y B) de Tlaquiltenango, Morelos.

Se sabe que el Cd no forma complejos orgánicos estables (Baron *et al.*, 1990) debido a la baja solubilidad del carbonato de cadmio y a la baja constante de absorción de los complejos formados con la materia orgánica. Esto puede explicar por qué una fracción tan pequeña de cadmio se encuentra unida a materia orgánica (1.97% en jales A y 1.06% en jales B). En general, la asociación del cadmio con las diferentes formas geoquímicas en los jales se encontró en el siguiente orden: cadmio intercambiable > cadmio unido a óxidos de Fe y Mg > cadmio unido a azufre > cadmio unido a materia orgánica > cadmio residual > cadmio soluble en agua.

Con base en los resultados anteriores, se probaron diferentes agentes quelantes en diferentes concentraciones, con el objeto de seleccionar el agente y la concentración que permitiera una mayor movilización de plomo y cadmio en los jales, para lograr una mayor acumulación de éstos en la parte aérea.

7.3 Selección de un agente quelante

El uso de agentes quelantes, sintéticos o ácidos orgánicos de bajo peso molecular, contribuye a formar complejos con iones metálicos, modificando así la biodisponibilidad de los metales en el suelo (do Nascimento *et al.*, 2005). En las Figuras 9 y 10 se aprecia que el ácido fosfórico, tartárico, cítrico y oxálico fueron los agentes menos efectivos para la movilización de plomo y cadmio, respectivamente, en los suelos contaminados con jales en relación con el agente quelante químico, el ácido etilen diamino tetra acético (EDTA). Esta

respuesta puede atribuirse a que los ácidos orgánicos más efectivos para formar quelatos con cationes metálicos como magnesio, calcio, zinc, manganeso, hierro, cobre, molibdeno y cobalto, son aquellos del tipo hidrox-tricarboxílicos, tales como el ácido cítrico, málico, tartárico, glucónico y láctico (Evangelou *et al.*, 2005).

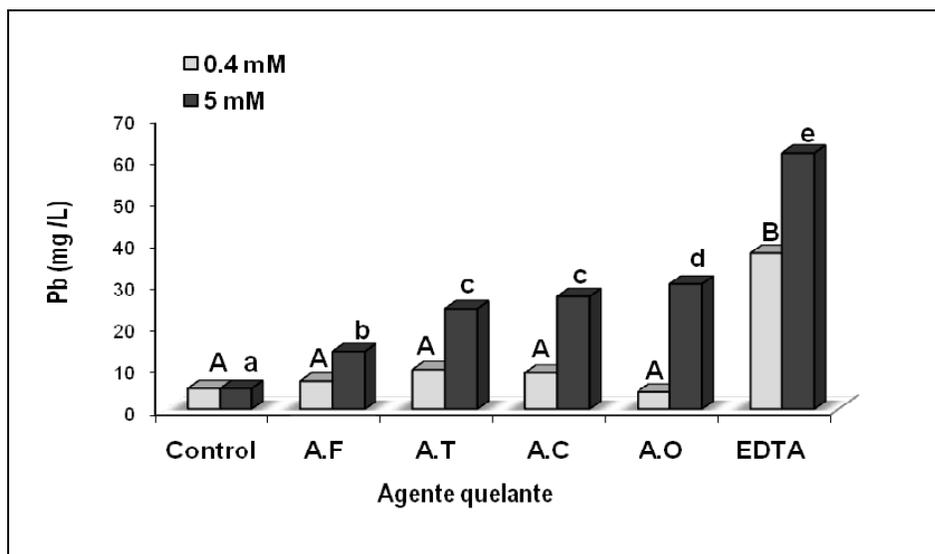


Figura 9. Efecto de diferentes agentes quelantes: ácidos fosfórico (A.F), tartárico (A.T), cítrico (A.C), oxálico (A.O) y etilendiamintetraacético (EDTA), sobre la disolución de plomo en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden al tratamiento con una concentración 0.4 mM, y las minúsculas indican la comparación de medias con el tratamiento del agente quelante con una concentración 5 mM.

Los agentes quelantes de fortaleza media y débil como los ácidos glucónico, cítrico, tartárico y málico parecen ser los más indicados para la nutrición vegetal (como micronutrientes), porque son estables, asimilables y fitocompatibles. El ácido cítrico puede movilizar metales como el Cd, Zn, Cu y Ni de suelos contaminados, sin incrementar el riesgo de lixiviación de estos metales (do Nascimento *et al.*, 2005). En los resultados mostrados en la Figura 10 no se aprecian diferencias significativas entre el ácido fosfórico, tartárico y oxálico respecto al cítrico para movilizar Cd, es decir, cualquiera de estos ácidos puede emplearse en concentraciones de 0.4 y 5 mM para movilizar Cd de jales. La biodisponibilidad del plomo y el cadmio en las muestras se evaluó a través de la proporción del metal que puede disolverse (lixiviar) en condiciones ácidas (agua meteórica). Los resultados demostraron que el EDTA favoreció significativamente la biodisponibilidad y movilidad del metal con respecto a los otros agentes quelantes en ambas concentraciones ensayadas (0.4 mM y 5 mM) (Figuras 9 y 10). Satroutdinov y *et al* (2000) demostraron que el EDTA, unido a metales con constantes de alta solubilidad, como el Cu, Fe, Pb y Zn son

movilizados más fácilmente que los complejos con constantes de baja solubilidad como el Cd, Mg y Mn. Estos resultados fueron corroborados ya que el EDTA movilizó más plomo (5.11%) que cadmio (3.4%) respecto al contenido total de los jales.

En las muestras tratadas con EDTA se encontró aproximadamente nueve veces más plomo soluble (61.3 mg Pb/L) que en la muestra sin agente quelante (control) (7.4 mg Pb/L) (Figura 9). Además se observó que al aumentar la concentración de los agentes quelantes en los jales de 0.4 mM a 5 mM, el plomo soluble también se incrementó cerca de 3 veces.

En la Figura 10 se observa que el cadmio soluble en la muestra control fue casi diez veces menor (0.03 mg Cd/L) que en la muestra con EDTA (0.34 mg Cd/L). En este caso, al aumentar la concentración de los agentes quelantes en los jales, no se observó un incremento significativo.

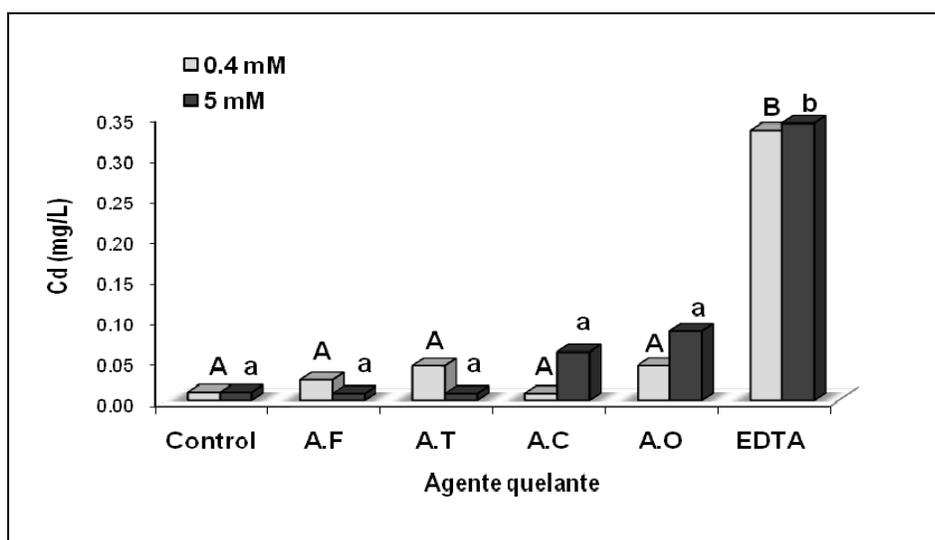


Figura 10. Efecto de diferentes agentes quelantes: ácidos fosfórico (A.F), tartárico (A.T), cítrico (A.C), oxálico (A.O) y etilendiamintetraacético (EDTA), sobre la disolución de cadmio en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden al tratamiento con una concentración 0.4 mM y las letras minúsculas indican comparación de las medias con el tratamiento del agente quelante con una concentración 5 mM.

En la siguiente sección se presentan los resultados correspondientes a la segunda etapa de este trabajo, que comprenden: (i) supervivencia de las plantas en diferentes tratamientos; (ii) tasa de crecimiento; (iii) índice de tolerancia; (iv) acumulación de plomo y cadmio en tejidos vegetales; (v) factores de traslocación y coeficientes de fitoextracción, para cada una de las especies y (vi) destino final del plomo en tejidos vegetales.

7.4 Supervivencia de las plantas en diferentes tratamientos

En la Figura 11 se muestran las diferencias en la supervivencia de *A. fistulosus* y *B. juncea*, evaluada como el número de individuos que sobrevivieron en el tiempo con relación al número de individuos iniciales. Las diferencias en esta variable se deben a que las especies no pertenecen al mismo género y a que requieren diferentes condiciones de humedad y temperatura para su crecimiento. En *A. fistulosus* se observó un 64% de supervivencia y 78% para *B. juncea* al final de los tratamientos. Se puede observar que *B. juncea* se adapta mejor al cambio entre los medios ensayados (*in vitro*, agrolita:turba y jales) que *A. fistulosus*, es decir, esta última especie es más susceptible al trasplante.

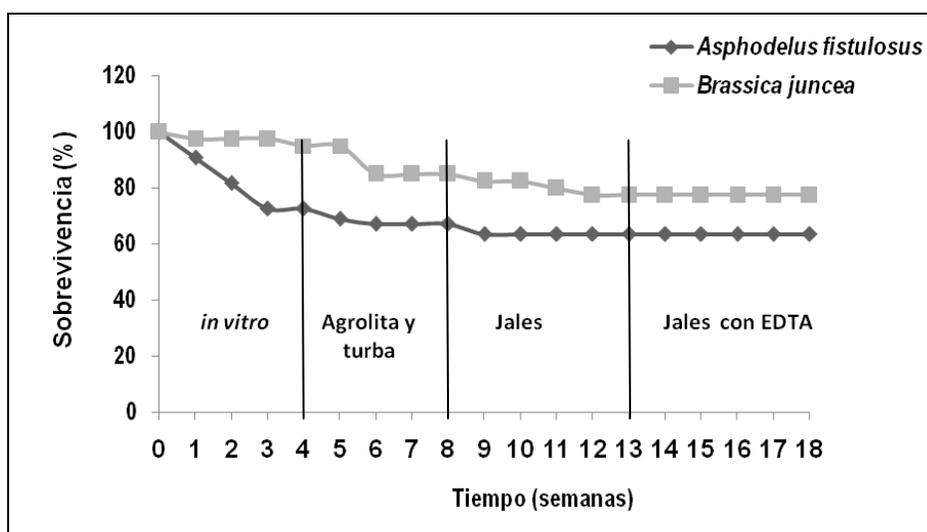


Figura 11. Supervivencia de *Brassica juncea* y *Asphodelus fistulosus* para los diferentes tratamientos.

Como se observa, a partir de las 12 semanas, las plantas crecidas en los jales no presentaron síntomas de toxicidad (clorosis o necrosis), lo que se atribuyó a que el plomo y cadmio podían no estar biodisponibles. Lo anterior se confirmó determinando que la cantidad de Pb y Cd soluble en los jales era mínima (Figuras 9 y 10) y que para aumentar su biodisponibilidad era necesario agregar un agente quelante. Con base en lo anterior y, con el objeto de determinar el efecto de la movilización de los metales sobre su acumulación y el crecimiento de las plantas, después de las 12 semanas, se adicionó EDTA. Los resultados obtenidos (Figura 11) indicaron que la supervivencia en ninguna de las especies se afectó al adicionar una solución de EDTA 1mM.

7.5 Tasa máxima de crecimiento de las plantas en jales

Se empleó *B. juncea*, ya que se ha encontrado que esta especie puede crecer en presencia de altas concentraciones de metales pesados que contaminan suelos (Cunningham *et al.*, 1995). En la Tabla 15 se aprecia que las plantas crecidas en presencia de diferentes concentraciones de plomo mostraron una mayor tasa de crecimiento que las plantas crecidas en ausencia del metal. Se observó que junto con el aumento en la concentración de plomo, la tasa de crecimiento también aumentó, esta respuesta puede estar asociada con la tolerancia de la planta (Cobett, 2000; Maier *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005).

Tabla 15. Tasa máxima* de crecimiento para *Brassica juncea* en función de la concentración inicial de plomo en jales.

Concentración inicial de plomo (mg/kg jales)	Sin EDTA (cm/semana)	Con EDTA (cm/semana)
0	0.219 ^a	0.094 ^a
1 200	0.742 ^b	0.351 ^b
2 500	0.766 ^b	0.527 ^c
5 000	0.941 ^c	0.803 ^d
6 200	0.870 ^c	1.285 ^e
7 100	1.306 ^e	0.646 ^c

Valores en la columna con la misma letra no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). *Ver apartado 6.6.4 para el cálculo de la tasa máxima de crecimiento.

Puede observarse que la mayor tasa de crecimiento para *Brassica* con y sin adición de EDTA fue de 1.31 cm/semana y 1.29 cm/semana, respectivamente, en concentraciones iniciales de Pb de 7 100 y 6 200 mg/kg. En general, la tasa de crecimiento fue menor en las plantas adicionadas con EDTA, que con las plantas sin EDTA; este resultado puede atribuirse a que la aplicación de la solución 1mM de EDTA en los jales aumentó los metales solubles y con ello la translocación a la parte aérea, afectando así la tasa de crecimiento.

En la Tabla 16 se muestra la tasa de crecimiento para *A. fistulosus* con y sin EDTA, la mayor tasa encontrada fue de 1.249 cm/semana y 0.433 cm/semana, respectivamente, para una concentración inicial de 1200 mg Pb/kg. En general, la tasa de crecimiento de las plantas con EDTA fue mayor al de las plantas sin el ácido. Esto se podría explicar considerando que la planta desarrolla un mecanismo en donde impide el transporte de metales hacia la parte aérea y de esta forma no se afecta la tasa de crecimiento. Estos resultados contradicen lo reportado por Albasel y Cottenie (1985), ellos encontraron que

después de adicionar 1g/kg (2.7mM) de EDTA a un suelo con 110 mg Pb/kg, plantas de *Lolium perenne* dejaron de crecer y algunas murieron.

Tabla 16 Tasa máxima* de crecimiento para *Asphodelus fistulosus* en función de la concentración inicial de plomo en jales.

Concentración inicial de plomo (mg/kg jales)	Sin EDTA (cm/semana)	Con EDTA (cm/semana)
0	0.382 ^d	0.756 ^d
1 200	0.433 ^e	1.249 ^e
2 500	0.274 ^c	0.770 ^c
5 000	0.261 ^b	0.356 ^b
6 200	0.260 ^b	0.335 ^b
7 100	0.210 ^a	0.224 ^a

Valores en la columna con la misma letra no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). *Ver apartado 6.6.4 para el cálculo de la tasa máxima de crecimiento.

7.6 Índice de tolerancia

La tolerancia de una especie a la presencia de metales, se define como las adaptaciones que surgen cuando dicha especie crece y se reproduce en lugares contaminados con metales pesados (Baker *et al.*, 1994). En la Figura 12 y 13 se muestra el índice de tolerancia, evaluado para *A. fistulosus* y *B. juncea*, a diferentes concentraciones de plomo y cadmio en jales respectivamente. Este índice se calcula comparando con la elongación de raíces en un medio sin el contaminante (100%).

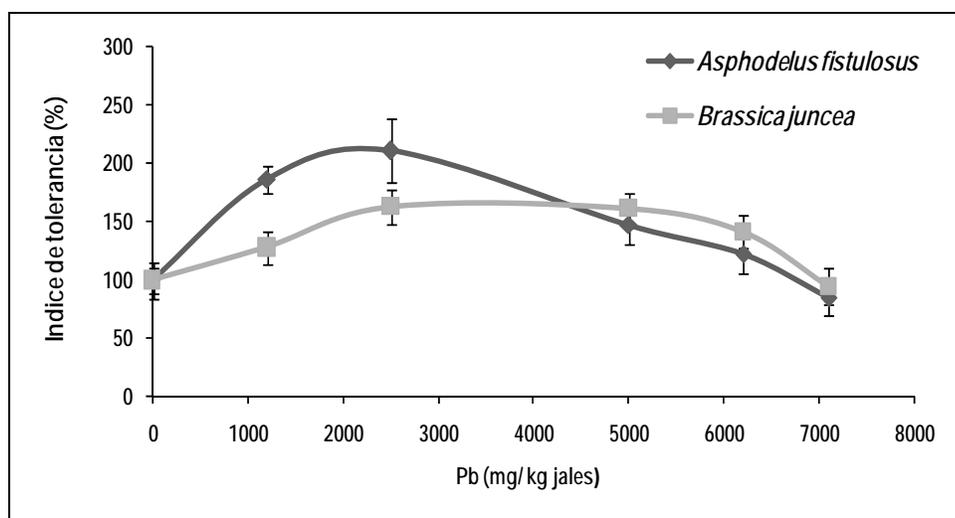


Figura 12. Índice de tolerancia (IT) para *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea* en función de diferentes concentraciones de plomo. Las barras de error representan la desviación estándar ($n=7$).

Se aprecia que estas especies no solo son tolerantes, si no que además, el aumento en la concentración de metales (plomo y cadmio) estimuló el desarrollo de sus raíces. Con excepción de las concentración de 7 200 mg Pb/kg jales y 90 mg Cd/kg jales, en donde el índice de tolerancia disminuyó a 85 y 95% para *A. fistulosus* y *B. juncea*, respectivamente, los resultados obtenidos sugieren que ambas especies toleran hasta 6 200 mg Pb/kg jales y 80 mg Cd/kg jales.

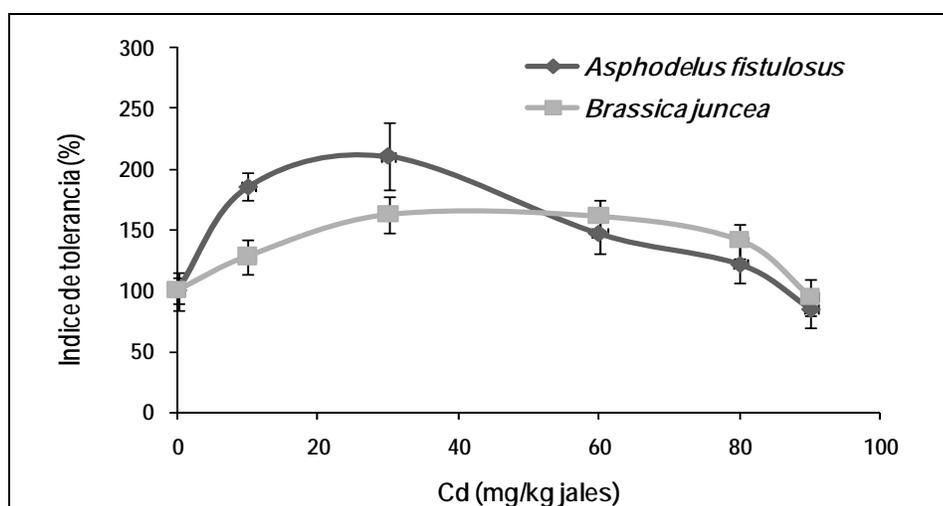


Figura 13. Índice de tolerancia (IT) para *Asphodelus fistulosus* y *Brassica juncea* en función de diferentes concentraciones de cadmio. Las barras de error representan la desviación estándar (n=7)

El índice de tolerancia es una medida que relaciona el crecimiento de la raíz de una planta crecida con y sin metales, pero no proporciona información acerca de la acumulación de metales en los tejidos vegetales, por lo cual es importante analizar dicho fenómeno como una variable de respuesta, a través de los índices correspondientes. Dichos índices son presentados en la siguiente sección.

7.7 Acumulación de plomo y cadmio en tejidos vegetales

La acumulación de plomo se define como la cantidad de sustancia que permanece en un organismo después de un tiempo de exposición (Depledge *et al.*, 1994). En esta investigación se consideró como variable principal la acumulación de plomo y cadmio en el tejido vegetal de *A. fistulosus* y *B. juncea*, para decidir si la planta es o no hiperacumuladora, ya que integra tanto el grado de absorción del metal por las plantas, así

como el efecto negativo que una concentración excesiva del metal puede tener sobre la producción de biomasa (Rodríguez *et al.*, 2006).

En la Figura 14 se observa que *B. juncea* es una especie que acumula mayor cantidad de plomo en la parte aérea que en la raíz. En estudios previos (Nanda *et al.*, 1995) se ha demostrado que *B. juncea* y *B. nigra* tienen la capacidad para acumular metales; aparentemente, esta capacidad es inherente de algunas especies silvestres de la familia *Brassicaceae*, que crecen en suelos ricos en metales y acumulan grandes cantidades de este metal en la parte aérea. Se encontró que la concentración de Pb en raíces y parte aérea en *B. juncea* aumentó junto con la concentración inicial de plomo en los jales hasta un valor de 6 100 mg Pb/kg, concentración a partir de la cual, la acumulación de plomo disminuyó. La mayor concentración de plomo registrada en parte aérea fue de 1 698 mg Pb/kg planta y en raíz 723 mg Pb/kg planta. Estos resultados sugieren que esta especie se puede considerar hiperacumuladora de plomo, de acuerdo con el criterio establecido por Baker *et al.* (1989), en donde se menciona que una especie puede considerarse hiperacumuladora de plomo cuando en su parte aérea concentra más de 1 000 mg/Pb kg planta.

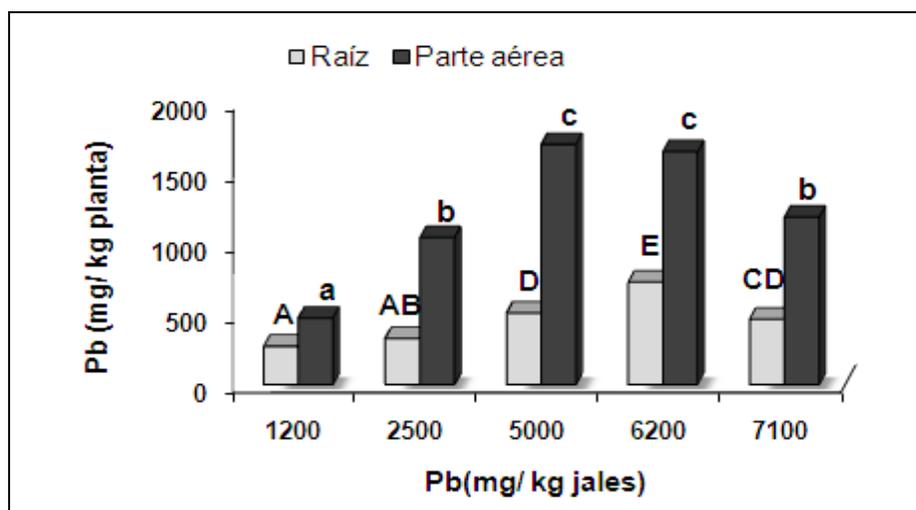


Figura 14. Acumulación de plomo en el tejido de *Brassica juncea* en función de la concentración inicial en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden a la comparación de medias en raíz y las letras minúsculas indican la comparación de las medias en parte aérea.

El carácter hiperacumulador de esta especie se puede deber a que las altas concentraciones de plomo que incorpora, alteran su sistema de transporte, provocando que la entrada y translocación del plomo se faciliten (Huang *et al* 1997). Asimismo, se ha

demostrado que la mayor acumulación de Pb en parte aérea se debe a una mayor producción de biomasa (Rodríguez *et al.*, 2006).

La acumulación de cadmio en la parte aérea y raíces de *B. juncea* se incrementó conforme la concentración de metales en los jales aumentó (Figura 15). La mayor acumulación de cadmio fue de 153 y 47 mg Cd kg/planta, en la parte aérea y raíz, respectivamente. Estos resultados indican que *B. juncea* concentró más de 100 mg Cd/kg planta en su parte aérea, por lo que se puede considerar una especie hiperacumuladora de cadmio, de acuerdo con el criterio establecido por Baker *et al.* (1989).

Jian *et al.* (2004), encontraron que *B. juncea*, después de 42 días de crecimiento en un suelo franco-arcilloso contaminado con $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, acumuló 160 mg Cd kg/planta en su parte aérea, pero en la raíz encontraron hasta 300 mg Cd kg/planta.

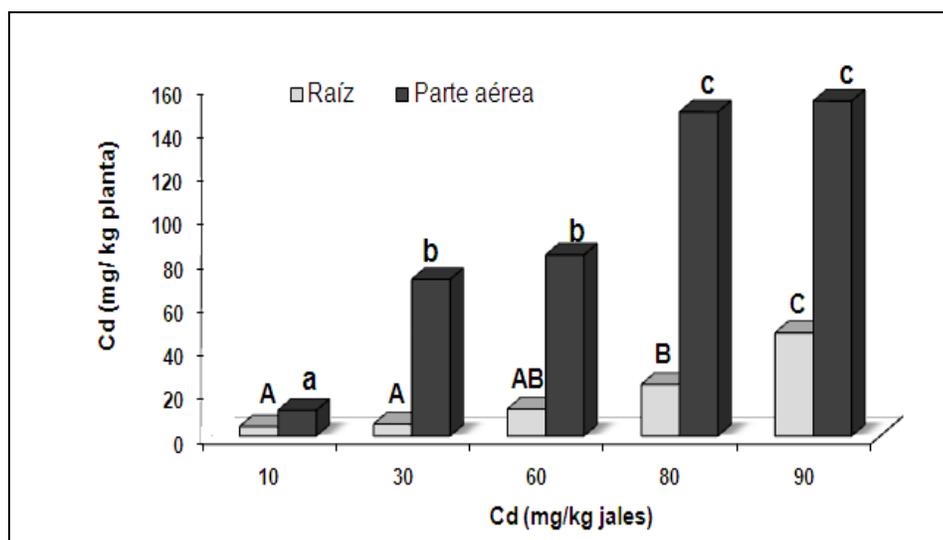


Figura 15. Acumulación de cadmio en el tejido de *Brassica juncea* en función de la concentración inicial en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden a la comparación de medias en raíz y las letras minúsculas indican la comparación de las medias en parte aérea.

Por otra parte, *A. fistulosus* mostró una clara tendencia a acumular más plomo a medida que se incrementaba su concentración en los jales. En la Figura 16 se observa que las plantas acumularon la mayor parte del metal en la raíz (1 432 mg Pb/kg planta) en el tratamiento con 6 100 mg Pb/kg jales. Este comportamiento puede reflejar un mecanismo para impedir el paso del contaminante hacia el resto de la planta, y por consiguiente la planta propicia la acumulación del metal en las raíces (Alarcón *et al.*, 2006).

En estudios previos, González *et al.* (2006), reportaron que *A. fistulosus* tiene la capacidad de acumular metales en los tejidos, encontraron que esta especie acumula 6 y 100 mg Pb/kg planta en parte aérea en jales originarios de Sombrerete y Noria de los Angeles, Zacatecas, respectivamente. Con nuestros resultados se demostró que *A. fistulosus* acumuló hasta 850 mg Pb/kg planta en su parte aérea. Las diferencias observadas en la acumulación de Pb en la misma especie en estudios previos y en éste trabajo pueden deberse: (i) concentración y especiación del metal; (ii) pH; (iii) edad y ecotipo de la planta. Estos factores modifican la translocación de los metales de la raíces hacia la parte aérea (Florijin *et al.*, 1993; Jiang and Singh, 1994; Tu *et al.*, 2002).

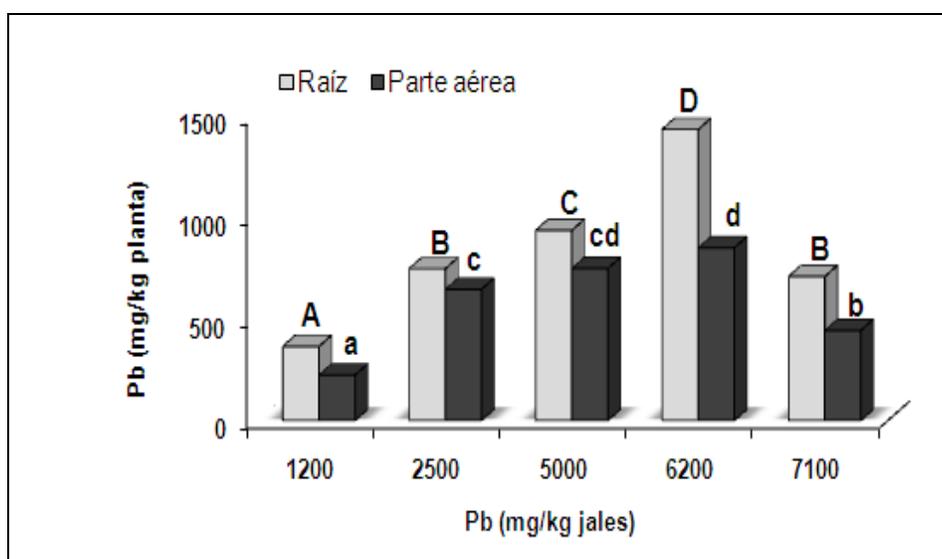


Figura 16. Acumulación de plomo en el tejido de *Asphodelus fistulosus* en función de la concentración inicial en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden a la comparación de medias en raíz y las letras minúsculas indican comparación de las medias en parte aérea.

En estudios recientes se ha demostrado la capacidad de algunas especies nativas de Zacatecas para acumular cadmio cuando crecen en residuos mineros, por ejemplo, *Teloxys graveolens* y *Jatropha dioica* acumularon 42.9 y 30.5 mg Cd/kg planta en su parte aérea, respectivamente. González *et al.* (2006), demostraron que *A. fistulosus* acumuló 8 y 9 mg Cd/kg planta en su parte aérea, cuando creció en jales procedentes de Sombrerete y Noria de los Angeles, Zacatecas, respectivamente (González *et al.*, 2006). Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente trabajo (Figura 17), se aprecia que *A. fistulosus* acumuló hasta 112 mg Cd/kg planta en la parte aérea cuando creció en jales de Tlaquiltenango. Es decir, *A. fistulosus* concentró más de 100 mg Cd/kg de planta en la parte

aérea, por lo que puede considerarse una especie hiperacumuladora de cadmio, de acuerdo con el criterio establecido por Baker *et al.* (1989). Además, en *A. fistulosus* no se encontraron diferencias significativas en la parte aérea a partir de 30 mg Cd/kg de planta.

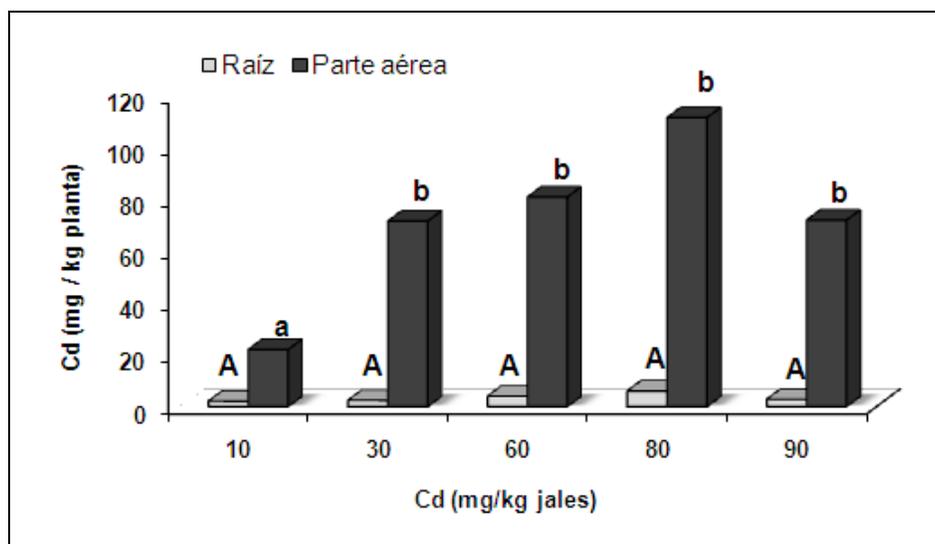


Figura 17. Acumulación de cadmio en el tejido de *Asphodelus fistulosus* en función de la concentración inicial en jales. Las barras con la misma letra no representan diferencias significativas ($\alpha=0.05$); las letras mayúsculas corresponden a la comparación de medias en la raíz y las letras minúsculas indican comparación de las medias en parte aérea.

Asimismo, se puede decir que, a diferencia del plomo, esta especie acumula cadmio en mayor cantidad en su parte aérea. Una manera de estimar la translocación de un metal desde las raíces hacia su parte aérea es a través del factor de translocación. Y para determinar la capacidad de acumulación de un metal por una especie vegetal es posible estimar el coeficiente de fitoextracción.

Para definir si una planta es fitoextractora y/o fitoestabilizadora se consideran factores como el coeficiente de fitoextracción (CF) y factor de traslocación (FT). De acuerdo con Mendez y Maier (2008), si los valores de CF y FT son mayores a 1, la especie puede ser considerada como fitoextractora; si son menores a 1, puede considerarse fitoestabilizadora. A continuación se presentan los resultados obtenidos para ambos índices.

7.7.1 Coeficiente de fitoextracción y factor de translocación para *B. juncea*

El coeficiente de fitoextracción o factor de bioconcentración expresa la capacidad de una planta (raíz y parte aérea) para acumular metales del suelo, mientras que el factor de translocación define la efectividad de la planta para translocar los metales a la parte aérea. En la Tabla 17 se muestran los valores del CF y FT para *B. juncea*, los valores de FT son mayores a uno en todas las concentraciones ensayadas, lo cual confirma que esta especie es fitoextractora de plomo (Nanda *et al.*, 1995). Además este valor indica que esta especie es hiperacumuladora de Pb, porque cuando las especies no son hiperacumuladoras usualmente presentan mayor acumulación en las raíces que en la parte aérea y por lo tanto un FT menor a uno. En la tabla 17 se observa que los valores de CF obtenidos no fueron mayores a uno, esto es porque la acumulación de plomo en las raíces y parte aérea de *B. juncea* es muy pequeña en comparación con las concentraciones iniciales de plomo que hay en los jales.

Tabla 17. Coeficientes de fitoextracción (CF) y factor de translocación (FT) para *Brassica juncea* crecida en jales con diferentes concentraciones iniciales de plomo, bajo condiciones de invernadero.

Pb (mg /kg jales)	CF	FT
1 200	0.62 ^c	1.74 ^a
2 500	0.55 ^{bc}	3.20 ^c
5 000	0.44 ^{abc}	3.36 ^c
6 200	0.39 ^{ab}	2.28 ^b
7 100	0.24 ^a	2.56 ^b

*Medias con la misma letra (en columnas) no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). Ver apartado 6.9 para el cálculo de CF y FT.

En la Tabla 18 se presentan los valores de CF y FT para *B. juncea* crecida en presencia de diferentes concentraciones iniciales de cadmio. Los valores de ambos coeficientes fueron mayores a uno, estos resultados sugieren que es una especie fitoextractora de cadmio. Sin embargo estos resultados no coinciden con lo reportado por Yu-Jing *et al.* (2004) ya que ellos encontraron que los valores del factor de translocación para esta misma especie fueron de 0.073 y 0.086.

Tabla 18. Coeficientes de fitoextracción (CF) y factor de translocación (FT) para *Brassica juncea* crecida en jales con diferentes concentraciones iniciales de cadmio, bajo condiciones de invernadero.

Cd (mg /kg jales)	CF	FT
10	1.66 ^a	2.72 ^a
30	2.57 ^a	13.3 ^c
60	1.58 ^a	6.74 ^b
80	2.15 ^a	6.31 ^b
90	2.23 ^a	3.25 ^a

*Medias con la misma letra (en columnas) no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). Ver apartado 6.9 para el cálculo de CF y FT.

7.7.2 Coeficiente de fitoextracción y factor de translocación para *A. fistulosus*

Para *A. fistulosus*, los resultados mostrados en la Tabla 19, indican que se trata de una especie potencialmente fitoestabilizadora de plomo, debido a que los valores de CF y FT fueron menores a uno y a que las cantidades del metal acumuladas en la raíz fueron significativas. Resultados similares fueron reportados por González *et al.* (2006), quienes encontraron un CF para esta misma especie de 0.9 cuando creció en jales procedentes de la Noria de los Angeles, Zacatecas. Sin embargo, en este mismo estudio determinaron un CF de 2.0 para *A. fistulosus* cuando creció en jales procedentes de otro sitio (Sombrerete, Zacatecas).

Tabla 19. Coeficientes de fitoextracción (CF) y factor de translocación (FT) para *Asphodelus fistulosus* crecida en jales con diferentes concentraciones iniciales de plomo, bajo condiciones de invernadero.

Pb (mg /kg jales)	CF	FT
1 200	0.49 ^c	0.61 ^a
2 500	0.56 ^c	0.86 ^c
5 000	0.34 ^b	0.80 ^b
6 200	0.37 ^b	0.59 ^a
7 100	0.16 ^a	0.62 ^a

*Medias con la misma letra (en columnas) no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). Ver apartado 6.9 para el cálculo de CF y FT.

En la Tabla 20 se presentan los valores de CF y FT para *A. fistulosus*, con respecto al cadmio en los jales. Los valores encontrados fueron mayores a uno, por lo que se puede considerar una especie fitoextractora de cadmio. Estos resultados coinciden con lo reportado por González *et al.* (2006), quienes reportan valores del CF de 1.2 y 9.8 en jales originarios de Zacatecas en Sombrerete y Noria de los Ángeles, respectivamente.

Por otro lado Deng *et al.* (2004) reportaron que el factor de translocación para *Cyperus malaccensis*, *Leersia hexandra*, *Neyraudia reynaudiana* y *Phragmites australis* fue de 0.21, 0.81, 0.49 y 0.79 respectivamente cuando crecieron en presencia de cadmio. Los resultados en este estudio indican que *A.fistulosus* no tiene la capacidad de restringir la entrada de cadmio hacia la parte aérea.

Tabla 20. Coeficientes de fitoextracción (CF) y factor de translocación (FT) para *Asphodelus fistulosus* crecida en jales con diferentes concentraciones iniciales de cadmio, bajo condiciones de invernadero.

Cd (mg /kg jales)	CF	FT
10	2.36 ^{bc}	9.98 ^a
30	2.46 ^{ab}	29.49 ^e
60	1.41 ^{ab}	20.13 ^c
80	1.49 ^{ab}	16.88 ^b
90	0.83 ^a	25.50 ^d

*Medias con la misma letra (en columnas) no representan diferencias significativas (Prueba Tukey; $\alpha=0.05$, $n=7$). Ver apartado 6.9 para el cálculo de CF y FT.

Con base en los resultados obtenidos en nuestro trabajo puede decirse, de manera general, que los valores del coeficiente de fitoextracción y del factor de translocación dependen de la especie de planta y que son independientes de la concentración inicial de plomo y cadmio en los jales. Con estos resultados, puede sugerirse además, que la siembra de *A. fistulosus* en jales puede reducirse el riesgo de la dispersión eólica de metales pesados que se encuentran en los jales. Sin embargo, es importante conocer con mayor detalle el destino final de estos metales, especialmente el plomo, en los tejidos vegetales de las plantas en estudio. En la siguiente sección se analiza el destino del plomo en los tejidos vegetales de *A. fistulosus* y *B.juncea*.

7.8 Destino final del plomo en tejidos vegetales

En la Figura 18, se muestran fotografías correspondientes a los cortes realizados en hojas de *Brassica juncea* crecida sin plomo. La mayoría de las células que constituyen a la hoja son células del parénquima, con una función fotosintética y por ello son denominadas clorénquima (Figura 18-A y 18-B), ya que contienen una gran cantidad de cloroplastos. La importación y exportación de nutrimentos a la hoja se realiza a través del haz vascular éste se observa en la Figura 18-C, 18-D y 18-E. La superficie de la hoja está protegida por un tejido protector para evitar la pérdida de agua, denominado epidermis, en la cara abaxial se encuentra una cantidad de estomas abiertos (lo que implica transpiración) (Figura 18-F).

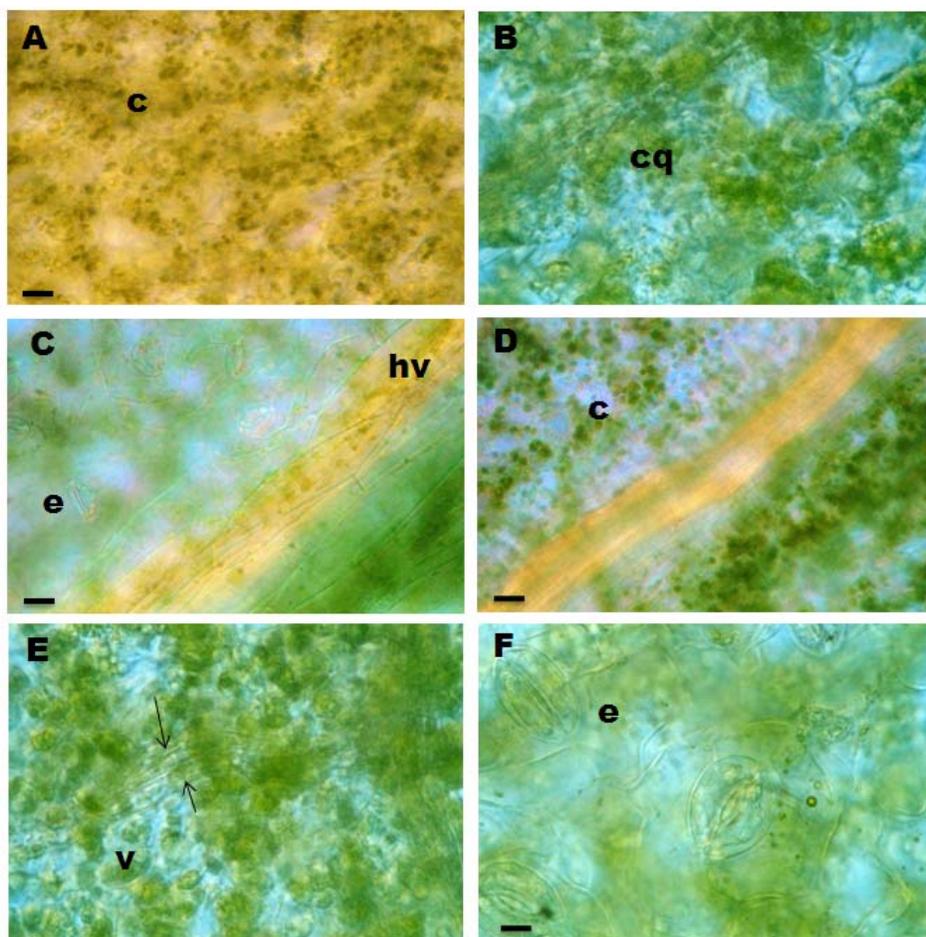


Figura 18. Hoja joven de *Brassica juncea* crecida en ausencia de plomo: **A)** parénquima clorofílico; **B)** clorénquima; **C, D, E)** haz vascular; **F)** estomas. **Abreviaturas:** c, cloroplastos; cq, clorénquima; ep, epidermis; e, estomas; hv, haz vascular; v, vena. → haz vascular. Fotografías A-F: Microscopía de contraste diferencial de interferencia "Nomarski". **Escala:** **A, C, D:** 119 μm ; **B, E, F:** 50 μm .

En las plantas cultivadas sin plomo, no se observó el efecto de la tinción con el rodizonato de sodio, lo que confirma que este reactivo reacciona únicamente ante la presencia de plomo (Tung y Temple, 1995). En la Figura 19 se muestran las fotografías correspondientes a cortes de una hoja joven de *B. juncea* crecida con plomo. Como se aprecia, las hojas presentan tinción con el rodizonato de sodio, en donde el plomo se encontró distribuido en los tejidos como finas partículas en el parénquima, a nivel apoplástico, asociado a paredes celulares (Figura 19-A, 19-B) o en forma difusa (Figura 19-D, 19-E). Asimismo, se observaron partículas intracelulares más grandes (Figura 19-C, 19-F) y tinción en el haz vascular, en forma de partículas dentro de los elementos traqueidales (Figura 19-G, 19-H) o en la parte externa de los mismos (Figura 19-I). La intensidad del color en las fotografías depende de la cantidad de los complejos plomo presentes en el tejido (Tung y Temple, 1995).

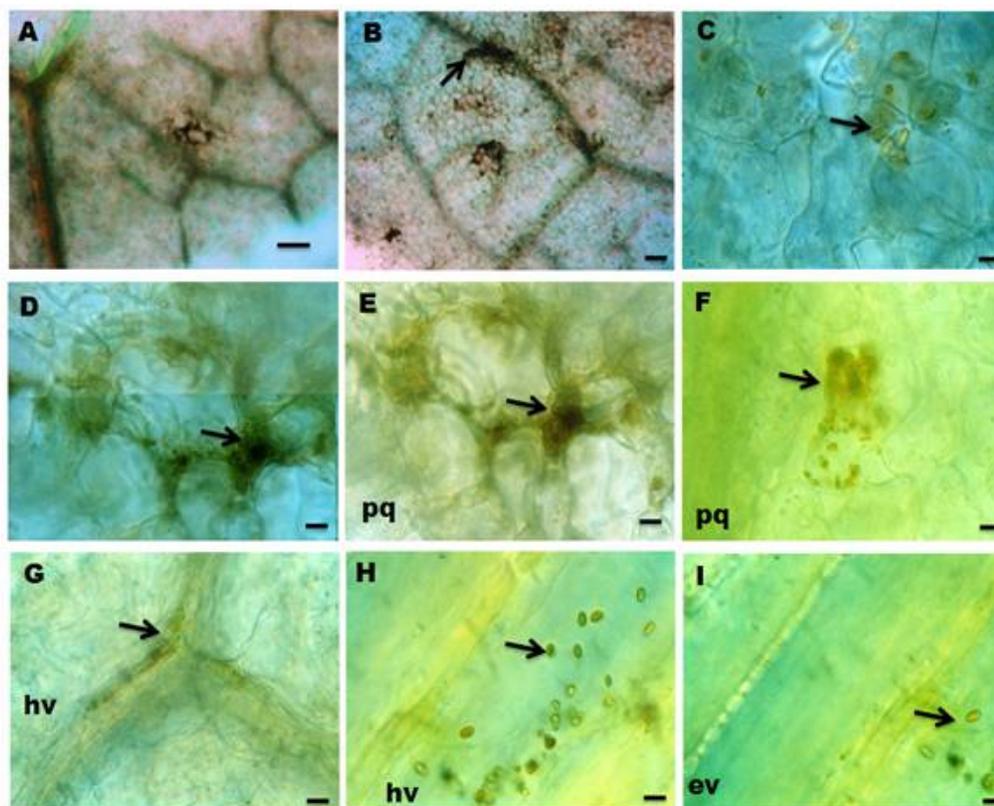


Figura 19. Hoja joven de *Brassica juncea* crecida con plomo: **A, B)** vista panorámica de la hoja con precipitados de plomo; **C)** parénquima de la hoja con precipitados de plomo vacuolados y, en primer plano, translucido se observa un estoma; **D, E)** precipitado de plomo en el apoplasto de la hoja; **F)** parénquima de la hoja con precipitados de plomo vacuolados; **G)** haz vascular con precipitado de plomo; **H, I)** aumento del haz vascular con precipitado de plomo. **Abreviaturas:** ev, elementos del vaso; hv, haz vascular; pq, parenquima. **→**, Pb precipitado. Fotografías A-I: microscopía de contraste diferencial de interferencia "Nomarski". **Escalas:** A, B: 476 μm ; C-I: 50 μm .

En la Figura 20 se presentan imágenes de una hoja de *B. juncea* senescente. Durante la senescencia, las hojas dirigen su metabolismo a la removilización de nutrientes y agua, que implica una mayor transpiración generando un arrastre de agua y con ello de plomo. De esta forma, el plomo se deposita en la epidermis (Figura 20-A, 20-B, 20-C), en el parénquima de la hoja (Figura 20-F, 20-G, 20-H) y, en particular, en el mismo estoma, tanto en la célula acompañante (Figura 20-A, 20-D) como en la célula oclusiva (Figura 20-B, 20-E). La observación de plomo en la epidermis puede deberse a su acumulación en las regiones donde finaliza el flujo de transpiración (Seregin y Kozhevnikova, 2008).

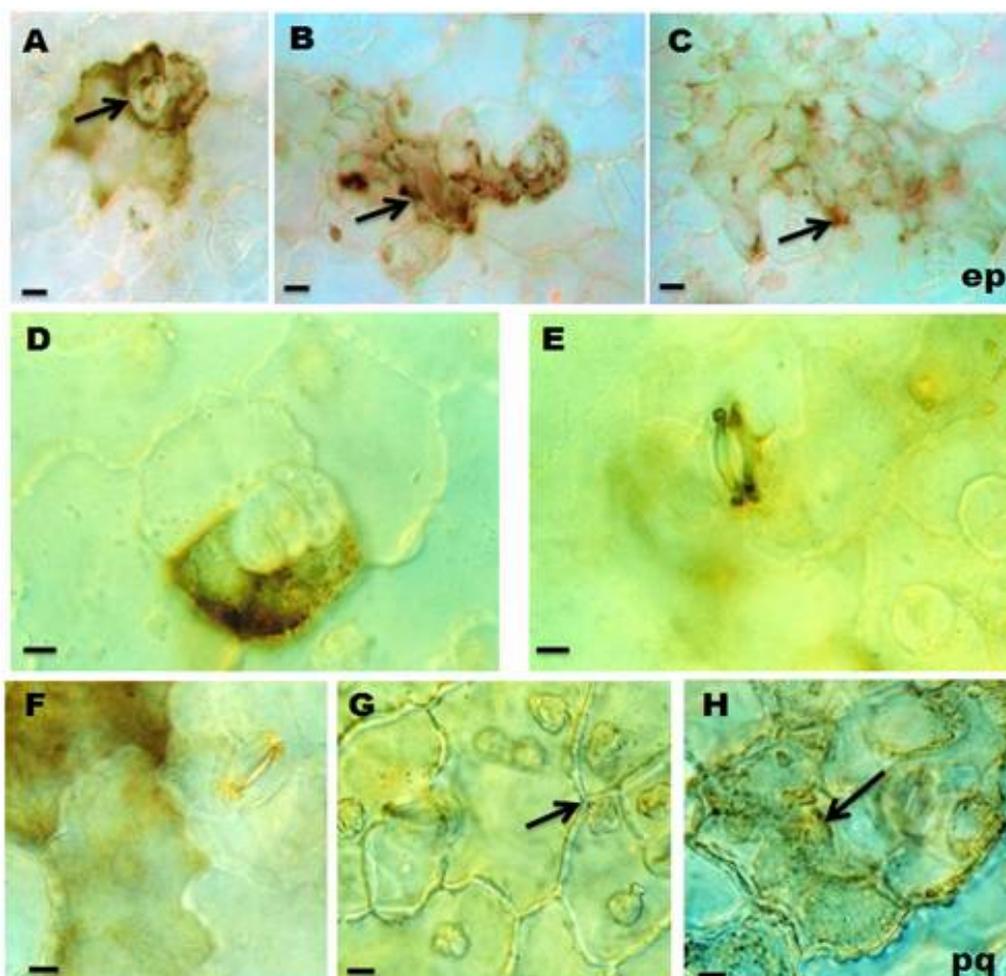


Figura 20. Hoja vieja de *Brassica juncea* crecida con plomo: **A)** estoma abierto con plomo; **B)** complejo estomatal teñido por la presencia de plomo; **C)** epidermis teñida por la presencia de plomo; **D)** estoma cerrado con tinción en las células acompañantes; **E)** estoma abierto con precipitados de plomo en la pared celular; **F)** parénquima de hoja teñido; **G, H)** parénquima con precipitaciones en el citoplasma. **Abreviaturas:** ep, epidermis; pq, parénquima. → Pb precipitado. Fotografías A-H: microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski". **Escala:** **A-D):** 119 μm ; **E-H):** 50 μm .

Cuando las células oclusivas están túrgidas, aumenta la presión de turgencia y las paredes se deforman abriendo el poro estomatal (Figura 20-E). Cuando las células oclusivas pierden agua, el estoma se cierra (Figura 20-D). En la mayoría de los vegetales, la cantidad de agua en la hoja es el factor que induce que los estomas se muestren abiertos o cerrados (Murray, 2006). Para el caso de la hoja joven (Figura 19) no se observaron depósitos de plomo en los estomas, esto puede ser porque existe una tasa alta de transpiración y los depósitos de plomo quedan localizados exclusivamente en el parénquima evitando una mayor toxicidad. Esto se debe a que en la planta se favorece la acumulación de plomo en órganos senescentes como mecanismo de eliminación (Rosa, 1999).

El plomo se considera un elemento tóxico para el crecimiento de una planta, pero cuando este elemento está presente en el medio de crecimiento, es absorbido por las raíces. En la Figura 21 se presentan las fotografías correspondientes a la raíz de *A.fistulosus*, se observan algunas partículas de los jales con plomo que quedan absorbidas en la superficie de la raíz (Figura 21-A) y parte del plomo soluble difunde hacia su interior, encontrándose precipitados en la epidermis (Figura 21-C, Fig. 21-G), llegando a la corteza (Figura 21-D).

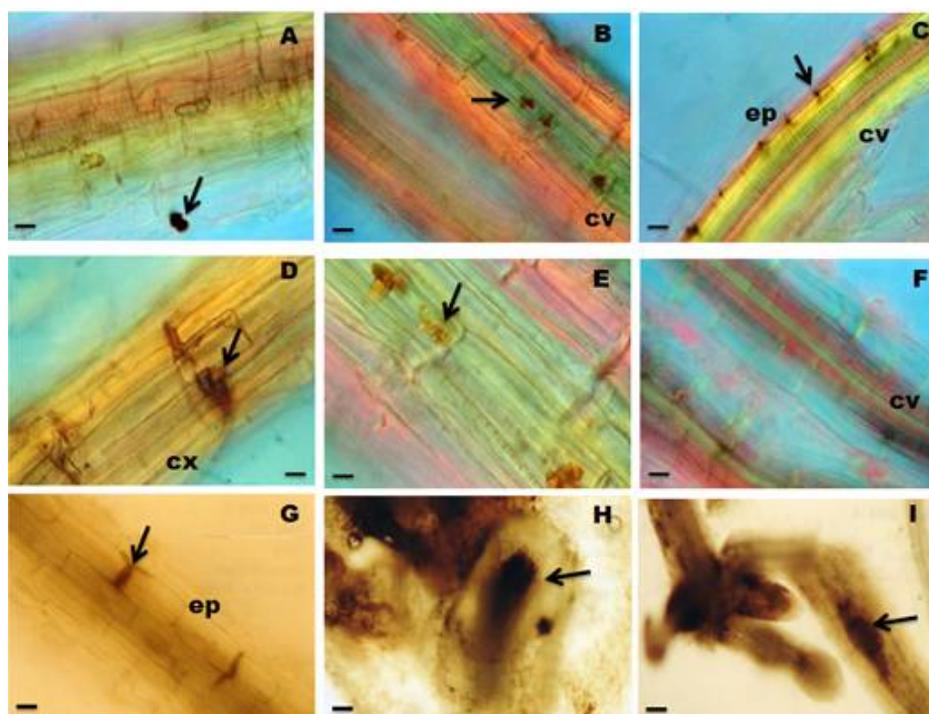


Figura 21. Raíz de *Brassica juncea* crecida con y sin plomo: **A)** partícula de plomo en la superficie; **B, E)** depósitos de plomo en el cilindro vascular; **C, G)** depósitos de plomo en la epidermis **D)** tinción en la corteza por la presencia de plomo; **F)** cilindro vascular sin depósitos de plomo; **H)** tinción en la raíz lateral por la presencia de plomo; **I)** raíz lateral con depósitos de plomo. **Abreviaturas:** cv, cilindro vascular; cx, corteza; ep, epidermis; hv, haz vascular. → Pb precipitado. Fotografías A-I: microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski". **Escalas:** A, B, C, F, G: 119 µm; D, E: 50 µm; H, I: 476 µm.

Los precipitados que se localizan en la corteza (Figura 21-D) se debe a que ésta ocupa la mayor parte en volumen de la raíz, y puede acumular una gran cantidad de Cd, Pb y Sr (Seregin e Ivanov, 1997). Resultados similares han sido obtenidos en raíces de *Populus* sp (Ksiazek y Wozny, 1990), *Tragopogon pulchellus* y *Elytrigia repens* (Tung y Temple, 1996). Después de que el plomo difunde a través de la corteza, se encuentra con la endodermis, en donde se localiza la banda de Caspary, que restringe o selecciona el paso del plomo al cilindro vascular (Figura 21-B, 21-E), indicando su paso a través de las células de la endodermis mediante un mecanismo de transporte a diferencia de las plantas crecidas sin plomo (Figura 21-F), en donde no se observó tinción en el haz vascular. La alta actividad de absorción de agua y nutrimentos de las raíces laterales induce a que exista una alta precipitación de rodizonato en las plantas crecidas con plomo que se deposita en el ápice (Figura 21-H, I) y en la corteza de la misma (Figura 21-I).

En la Figura 22 se muestra la hoja de *A. fistulosus* crecida sin plomo, se aprecian claramente las células del clorénquima (Figura 22-A, 22-B, 22-C) y los elementos traqueidales (Figura 22-A), en donde no se observó tinción café-rojiza debido a la ausencia de plomo, ocasionando que el rodizonato de sodio no reaccionara.

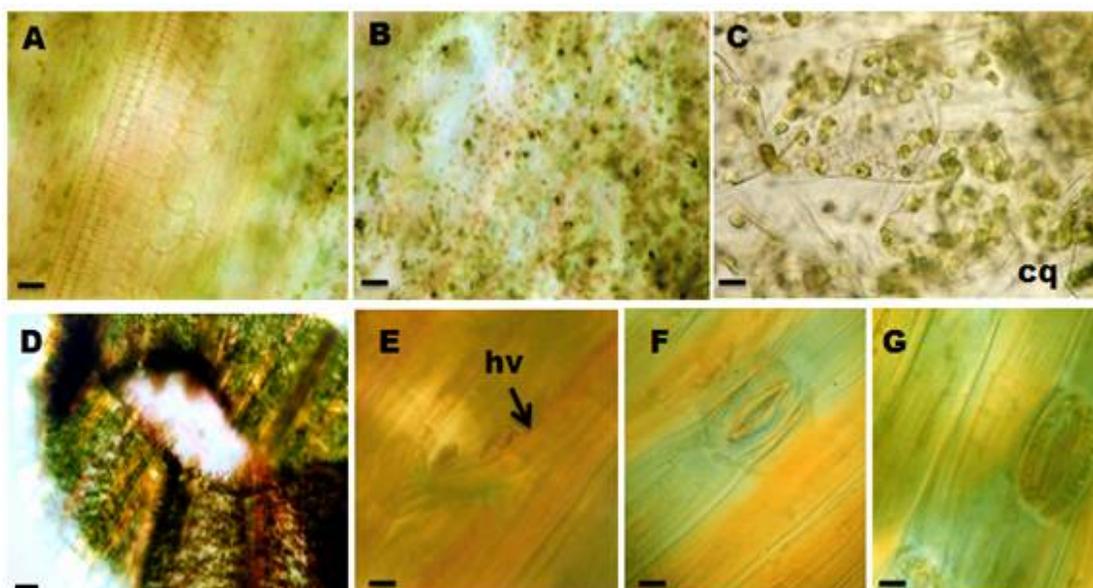


Figura 22. Hoja de *Asphodelus fistulosus* de plantas crecidas con y sin plomo: **A y B)** clorénquima de la hoja sin plomo; **C)** aumento del clorénquima sin plomo; **D)** vista panorámica de la hoja con plomo; **E)** haz vascular con plomo; **F, G)** estoma abierto sin precipitados de plomo. **Abreviaturas:** cq, clorénquima; hv, haz vascular →; Fotografías A,B, D-G: Microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski"; C: Microscopia de contraste de fases. **Escalas:** **A, B:** 119 μm ; **C, E-G** 50 μm ; **D:** 476 μm .

Una vista panorámica de una hoja de *A. fistulosus* crecida con plomo muestra un precipitado alrededor del haz vascular (Figura 22-D) y, en menor intensidad, en el clorenquima (Figura 22-E). De manera similar a lo observado en la hoja joven de *B. juncea*, los estomas no presentaron tinción (Figura 22-F, 22-G).

En la Figura 23 se muestra que *A. fistulosus* presenta un tallo en forma de disco de pequeñas dimensiones (Figura 23-A), que varía en longitud de unos pocos milímetros a centímetros (Murray, 2006), a partir del cual surgen las hojas. La raíz de *A. fistulosus* es axomorfica, es decir, se observa un cilindro vascular en el centro, donde se encuentra el xilema formando los elementos de vaso (Figura 23-B). En la zona de diferenciación de la raíz se encuentra la epidermis que se transforma en pelos absorbentes (Figura 23-C), una endodermis, una corteza con muchas capas de parénquima (Figura 23-D). Dentro del periciclo se encuentran haces de fibras que le dan sostén a la raíz y que se prolongan hacia el tallo (Figura 23-E, 23-F).

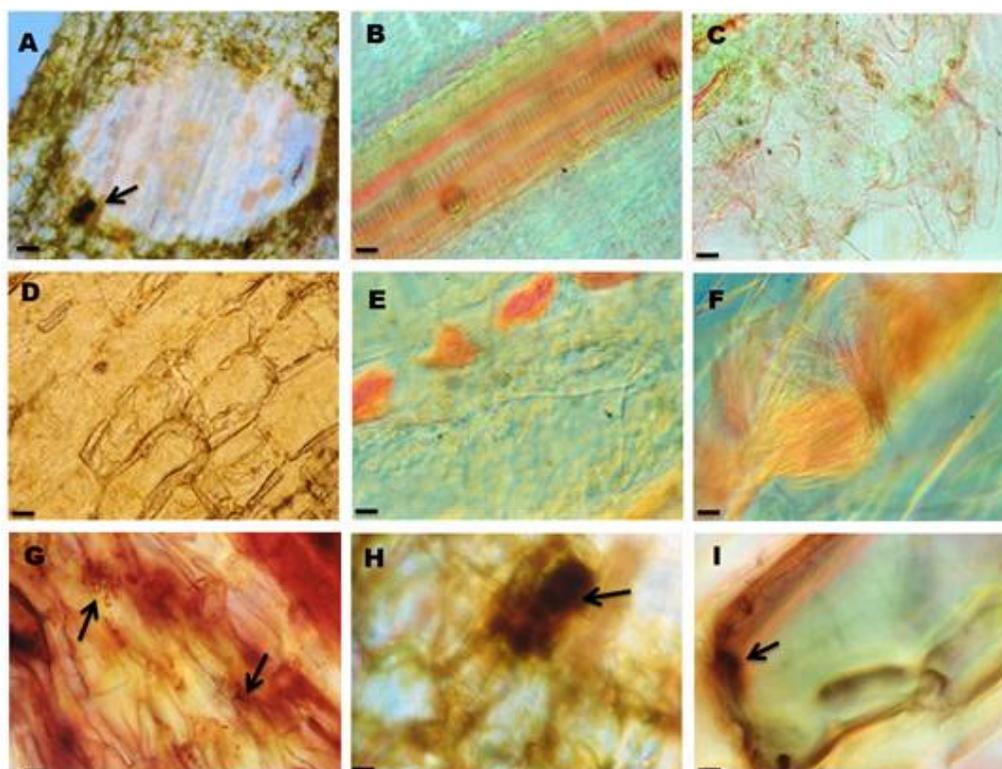


Figura 23. Raíz de *Asphodelus fistulosus* de plantas crecidas con y sin plomo: **A)** precipitado de plomo en el parénquima de la raíz **B)** elementos del vaso sin plomo; **C)** pelos absorbentes sin plomo; **D)** parénquima de la raíz sin precipitados de plomo; **E)** corteza; **F)** fibras de la raíz; **G)** corteza con precipitados de plomo y, en el centro, el haz vascular; **H, I)** aumento del parénquima de la raíz con precipitados de plomo; **Abreviaturas:** cx, corteza; pq, parénquima; \rightarrow Pb precipitado. Fotografías A-C, E-I: microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski"; D: microscopia de contraste de fases. **Escalas:** **A-D):** 119 μ m; **E, F, H, I:** 50 μ m; **G):** 476 μ m.

Los resultados del análisis histoquímico en la raíz de *A. fistulosus* mostraron que el plomo se distribuyó en la corteza con precipitados de plomo (Figura 23-G, 23-H, 23-I), debido probablemente a que en ellos ocurre la mayor absorción de agua y nutrimentos que difunden desde el exterior por el apoplasto y de esta forma hay una mayor absorción de Pb. Sin embargo, la eficacia de translocación de los nutrimentos al resto de la planta, se debe a la membrana plasmática de la endodermis, que lleva a cabo el transporte selectivo del tipo y cantidad de iones (Seregin y Kozhevnikova, 2008).

En el presente estudio se demostró la utilidad de la técnica del rodizonato de sodio para ubicar los sitios de la deposición del plomo en los tejidos de *A. fistulosus* y *B. juncea*. En estudios previos, Tung y Temple (1996), encontraron que la sensibilidad de la técnica es de 16 mg Pb/kg suelo contaminado, esto implica que por debajo de esta concentración las plantas crecidas en presencia de plomo no se tiñen. Esto sugiere que en los tejidos con plomo que no mostraron tinción, la concentración del metal estuvo por debajo de la sensibilidad de la técnica. Además, se demostró que los resultados del análisis histoquímico apoyan los resultados cuantitativos de la acumulación de plomo para *A. fistulosus* y *B. juncea*.

8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- Se registró una alta concentración de plomo (7 100 mg/kg) y cadmio (90 mg/kg) en los jales de Tlaquiltenango, Mor.
- Se desarrollaron los métodos para la propagación, *in vitro* y en invernadero de *A. fistulosus* y *B. juncea* con un 64 y 78% de sobrevivencia promedio, respectivamente.
- Se demostró que el mejor agente quelante para aumentar la movilidad de plomo y cadmio en los jales fue el EDTA a una concentración 5mM y 0.4mM respectivamente.
- Se demostró que *B. juncea* es una especie hiperacumuladora de cadmio y plomo en jales. Mientras que *A. fistulosus* es una especie hiperacumuladora de cadmio.
- Con los resultados de los factores de translocación y coeficientes de fitoextracción se demostró el potencial de *A. fistulosus* para fitoestabilizar plomo, así como para fitoextraer cadmio. Además, se demostró que *B. juncea* es una especie fitoextractora de plomo y cadmio. Por lo tanto las dos especies resultaron fitorremediadoras de plomo y cadmio en jales mineros.
- Los depósitos de Pb en cortes de una hoja vieja de *B. juncea* se observaron principalmente en los estomas y en el parénquima, mientras que en los cortes de una hoja joven se observaron en el haz vascular, células del parénquima y espacios apoplásticos. En la raíz de *B. juncea*, los depósitos de Pb se apreciaron en el cilindro vascular, epidermis y corteza. En la raíz de *A. fistulosus* los depósitos de Pb se observaron en la corteza y en el parénquima, mientras que en la hoja no se observó Pb.

9. RECOMENDACIONES

9. RECOMENDACIONES

- Para saber si los agentes quelantes influyen o no en la acumulación de plomo y cadmio en el tejido vegetal, es necesario realizar estudios relacionados con la fitoestabilización y/o fitoextracción sin emplear agentes quelantes.
- Con la finalidad de saber en qué etapa de su desarrollo *A. fistulosus* y *B. juncea* acumulan la mayor cantidad de plomo y cadmio es recomendable realizar cinéticas de crecimiento y acumulación.
- Para saber si el pH en los jales es modificado por la presencia de las plantas, es necesario llevar a cabo estudios para cuantificar fosfatos y carbonatos en los jales antes y después de los estudios de fitoestabilización y/o fitoextracción.
- Para confirmar la capacidad de acumulación de plomo y cadmio por *A. fistulosus* y *B. juncea*, pueden realizarse cosechas sucesivas sobre los jales empleados.
- Es recomendable evaluar la capacidad de *A. fistulosus* y *B. juncea* para acumular y/o estabilizar otros elementos potencialmente tóxicos en jales.

10. LITERATURA CITADA

10. LITERATURA CITADA

1. Albasel, N. y Cottenie, A. 1985. Heavy metals uptake from contaminated soils as affected by peat, lime and chelates. *Soil. Sci. Am. J.* 49: 386-390.
2. Alarcon, M., Magdaleno, B. y Benavides, A. 2006. Efecto de la concentración de plomo en suelo sobre la germinación y desarrollo de cultivos de *Raphanus Sativus* (Rábano) XV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias.
3. Ann, P., Baxter I., Richards, E., Freeman, J. y Murphy A. 2005. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. Topics in Current Genetics. Vol.14. Eds. Molecular biology of Metal Homeostasis and Detoxification.
4. Armienta, H., Villaseñor, C. y Romero, F. 2005. Propuesta de estrategia metodológica para la evaluación de la peligrosidad de jales en México. AIMMGM XXVI Convención Internacional de Minería, Veracruz.
5. ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1999. Toxicological Profile Information Sheet. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts5.html.
6. Baker, A. J. M. 1981. Accumulators and Excluders-strategies in Response of Plants to Heavy Metals. *J. Plant Nutr.* 3: 643-654.
7. Baker, A. J. M y R. R. Brooks. 1989. Terrestrial higher plants wich hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery.* 1: 81-126.
8. Baker, A. J. M., Reeves, R.D. y Hajar, A.S.M. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (*Brassicaceae*). *New Phytol.* 127: 61-68.
9. Banat, K. M., Howari, F. y Al-Hamad, A. A. 2005. Heavy Metals in Urban Soils of Central Jordan: Should we worry about Their Environmental Risks?. *Environ. Res.* 97: 258-273.
10. Barona, A., Aranguiz, I. y Elias A. 2001. Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for the effectiveness of further cleanup procedures. *Environ. Pollut.* 113: 79-85.
11. Baron, J., Legret, M. y Astruc, M. 1990. Study of interactions between heavy metals and sewage sludge. Determination of stability constants and complexation capacities of complexes formed with Cu and Cd. *Environ. Technol.* 11(2): 151-162.
12. Blaylock, M., Salt, D., Dushenkov S., Zauharova O. y Gussman C. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31: 860-865.

-
13. Burt, R., Wilson, M., Keck, T., Dougherty, B., Strom, D.E. y Lindahl, J.A. 2003. Trace Element Speciation in Selected Smelter-Contaminated Soils in Anaconda and Deer Lodge Valley, Montana, USA. *Adv. Environ. Res.* 8: 51-67.
 14. Buka, I. 2001. Plomo y Salud Infantil. Boletín de la Comisión para la Cooperación Ambiental de América Del Norte.
 15. Calow, P. 1993. Handbook of ecotoxicology. Blackwell Science Ltd., London, England. Vol. I. 478 pp.
 16. Chen, B., Christie, P. y Li, L. 2001. A Modified Glass Bead Compartment Cultivation System for Studies on Nutrient and Trace Metal Uptake by Arbuscular Mycorrhiza. *Chemosphere.* 42: 185-192.
 17. Cobett C. 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metals detoxification. *Plant Physiol.* 123: 825-832.
 18. CONABIO. 2007. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad Documento disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>.
 19. COREMI, Consejo de Recursos Minerales. 1994. Serie monográfica geológico-minera del Estado de Chihuahua. COREMI, México.104-268.
 20. Cunningham, S., Berti, W. y Huang, J. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology.* 13. 393-397.
 21. Cunningham, S., Shann J., Crowley D. y Anderson, T. 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. In E.L. Kruger, T.A. Anderson and J.R. Coats (Eds). Phytoremediation of soil and water contaminants. ACS Symposium Series 664 (2-19 p). Washington, D.C: American Chemical Society.
 22. Del Valle F.H. 1993. Capítulo 4. Determinación de la densidad aparente del suelo. Prácticas de relaciones Agua–Suelo–Planta–Atmósfera. Departamento de Publicaciones de la Dirección de Difusión Cultural de la UACH. UACH. México. 33–36.
 23. Deng, Z., Ye, Z. y Wong, M. (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environ. Pollut.* 132: 29-40.
 24. Depledge, M., Weeks J. y Bjerregaard.,P. 1994. Heavy metals. In: Handbook of Ecotoxicology. P. Calow (ed). Blackwell Publ. Cambridge. 79-105.
 25. Do Nascimento, C.W., Dula A. y A, Baoshan. 2005. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environ. Pollut.* 140: 114-123.

-
26. Enciclopedia de los Municipios de México Estado de Hidalgo, Zimapán, 2005. Disponible en: <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/hidalgo/municipios/13084a.htm>.
 27. Ernst, W.H. 1998. The Origin and Ecology of Contaminated, Stabilized and Non-Pristine Soils. En: Vangronsveld J, Cunningham SC (Eds) Metal Contaminated Soils, *In Situ* Inactivation and Phytoremediation, Springer, Berlin Heidelberg New York, p 17.
 28. Evangelou, M., Ebel, M. y Schaeffer A. 2005. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. *Chemosphere* 163 (6): 996-1004.
 29. Florijn, P., de Knecht, J.A., Van Beusichem y M.L., 1993. Phytochelatin concentrations and binding state of Cd in roots of maize genotypes in shoot/root Cd partitioning. *J. Plant Physiol.* 142: 537-542. .
 30. García, I. y Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por Metales Pesados. En: Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Disponible en: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>.
 31. Glater, R.F. y L. Hernández. 1972. Lead detection in living plant tissue using a new histochemical method. *J. Air Pollut.* 22: 463-467.
 32. Gestión y conservación del suelo. Disponible en: <http://www.unex.es/edafo/GCSP/GCSL4CEMetalesPesados.htm>.
 33. Gray N. F. 1997. Environmental impact and remediation of acid mine drainage: a management problema. *Environ. Geol.* 30: 62-71.
 34. Gondoy, B.W. 1991. Capítulo 3. Densidad real. Manual de laboratorio para el manejo físico de suelos. Departamento de Publicaciones de la Dirección de Difusión Cultural de la UACH. UACH. México. 33 – 38.
 35. González, R., González, C. y M.C.A. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes: soil and sediment remediation (SSR). *Environ. Pollut.* 144: 84-92.
 36. Guitart, R. y Vernon G. 2005. ¿Es el plomo empleado en deportes (Caza, tiro y pesca deportiva) un problema de salud pública infravalorado?. *Revista Española de Salud Pública* Vol.79 (6) Madrid Nov.- ISSN 1135-5727.
 37. Gutiérrez, M. 2003. Minería Unión de Grupos Ambientalistas (UGAM). Disponible en: <http://www.union.org.mx/guía/actividadesyagravios/minería.htm>.
 38. Gutiérrez, M.E. y M. Moreno. 1997. Los residuos en la minería mexicana. INE, México. Disponible en: http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/35/los_residuos.html?id_pub=3

-
39. Han, F.X., Banin, A., Kingery, W.L., Triplett, G.B., Zhou, L.X., Zheng S. J. y Ding, W.X. 2003. New Approach to Studies of Heavy Metal Redistribution in Soil. *Adv. in Environ. Res.* 8: 113-120.
 40. Huang, J., Chen, J., Berti, W. y Cunningham S. 1997. Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31:800-805.
 41. INEGI. 2004. Información geográfica del estado de Morelos. Disponible en: <http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/estados/mor/geolo.cfm>.
 42. INEGI. 2005. Información geográfica del estado de Hidalgo. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/inegi/default.aspx?e=13&c=124&s=geo>.
 43. ITRC. 1999. Interstate Technology and Regulatory Cooperation. Work Group: Phytoremediation Work Team. Phytoremediation Decision Tree. 25 pp.
 44. Jiang, Q.Q. y Singh, B.R. 1994. Effect of different forms and sources of arsenic on crop yield and arsenic concentration. *Water Air Soil Pollut.* 74: 321-343.
 45. Jiang, X.J., Luo, Liu,Q., Liu, S. y Zhao, Q. 2004. Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard. *Environmental Geochem Hlth* 26: 319–324.
 46. Ksiazek, M y Wozny, A. 1990. Lead Movement in Poplar Adventitious Roots. *Biol. Plant.* 32: 54-57.
 47. Lasat M. 2000. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soils, unpublished manuscript from the US EPA, American Association for Advancement of Sciences Fellowship Program p. 34.
 48. Lide, R, D. 1997. Handbook of Chemistry and Physics.CRC Press. 78th edition. Editorial. Boca Raton, FL, 2512 pp.
 49. Maier, E., Matthews, R., MacDowell, J., Walden, R. y Ahner, B., 2003. Environmental cadmium levels increase phytochelatin and glutathion in lettuce grown in a chelator-buffered nutrient solution. *J. Environ. Qual.* 32: 1356-1364.
 50. Marzocca, A., 1976. Manual de malezas, 3a ed. Edit. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 564 pp.
 51. Mattina, M. I., Lannucci-Berger, W., Musante, C. y White, J.C. 2003. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. *Environ. Pollut.* 124:375–378.
 52. Matte T. D. 2003. Efectos del Plomo en la Salud de la Niñez. Salud Pública Mex.Vol. 45. ISSN: 00363634. 220-224 p. Disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>.

-
53. Meagher R.B. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Plant Biol.* 3: 153-162.
 54. Mendez, M., Glenn, E. y Maier, R. 2007. Phytostabilization potential of quailbush for mine tailings: growth, metal accumulation, and microbial community changes. *J Environ Qual* 36:245-253.
 55. Mendez, M. y Maier, R. 2008. Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 7: 47-59.
 56. Mejía, J., Carrizales, L., Rodríguez, V., Jiménez-Capdeville, M. y Díaz-Barriga, F. 1999. Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas mineras. *Salud Pública Mex.* 41 supl 2:S132-S140.
 57. Murashige, T. y Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* F.15: 473-497.
 58. Murray, W. 2006. Introducción a la Botánica. Pearson Education, S.A. Madrid. 744 pp.
 59. Nanda, K., Dushenkov V., Motto H. y Raskin, I. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1232-1238.
 60. Navarro, J.; Aguilar, I. y J. Lopez-Moya, 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 2007/2.
 61. Nirel, P. M. V. y Morel, F. M. M. 1990. Pitfalls of sequential extractions. *Wat. Res.* 24: 1055-1056.
 62. Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMARNAT-2003. Diario Oficial de la Federación. 13 de septiembre de 2004.
 63. Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Diario Oficial de la Federación. 2 de marzo de 2007.
 64. Pagnanelli, F., Moscardini, E., Giuliano, V. y Toro, L. 2004. Sequential extraction of heavy metals in river sediments of an abandoned pyrite mining area: pollution detection and affinity series. *Environ. Pollut.* 132: 189-201.
 65. Pineda Hernández, R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus* L.) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis Doctoral en Biotecnología. Universidad de Colima, México. 114 pp.
 66. Prasad, M.N.V y H.M. Freitas. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electro. J. Biotech.* 6 (3): 285-321.

-
67. Raksasataya, M., Langdon, A. G. y Kim, N. D. 1996. Assessment of the extent of lead redistribution during sequential extraction by two different methods. *Analyt. Chem. Acta.* 332: 1-14.
 68. Reyes, Irma. 1996. Fundamentos teórico-prácticos de temas selectos de la ciencia del suelo. Parte I. Editorial Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. 277 pp.
 69. Ritcey G.M. 1989. Tailings Management. New York, NY. Elsevier Science Pub. Co. Inc. United States 1000 pp.
 70. Rollins, R. C., 1993. The Cruciferae of Continental North America. Stanford University Press, Stanford, California. 955 pp.
 71. Rodríguez, O. J., Rodríguez, F. H., Lira, R. G., Martínez, C. J., y Lara, M. J. 2006. Capacity of six plant species to accumulate lead in contaminated soils. *Fitotec. Mex.* 29 (3): 239-245.
 72. Rosa, C.E.V., M. Sierra, y C.M. Radetski. 1999. Use of plant tests in the evaluation of textile effluent toxicity. *Ecotoxicol. Environ.* 2: 56-61.
 73. Rosario K., Iverson, S., Henderson D., Chartrand S, McKeon C, Glenn E. y Maier R.M. 2007. Bacterial community changes during plant establishment at the San Pedro River mine tailings site. *J Environ Qual* 36:1249-1259.
 74. Rzedowski, G. C. y Rzedowski., J. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México. 1406 pp.
 75. Salas, S. 2007. Selección *in vitro* de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación. Tesis Especialidad biotecnología. UAM-Iztapalapa. 37 pp.
 76. Salt, D., Smith, R. y Raskin, I., 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 643-668.
 77. Satroutdinov, A., Dedyukhina, E., Chistyakova, T., Witschel, M., Minkevich, I., Eroshin V. y Egli, T. 2000. Degradation of metal-EDTA complexes by resting cells of the bacterial strain DSM 9103. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1715–1720.
 78. Sauquillo, A., Rigol, A. y Rauret, G. 2003. Overview of the use of Leaching/Extraction Tests for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments. *Trend. Anal. Chem.* 22: 152-159.
 79. Schnoor, J., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L. y Carreira, L.H. 1995. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants *Environ. Sci. Technol.* 29 (7): 318A-323A.

-
80. Schnitzer, M. 2000. Life Time Perspective on the Chemistry of Soil Organic Matter. D. L. Sparks (Ed.). *Advances in Agronomy*, Academic Press. 98: 3-58.
 81. Seregin, I., y Ivanov, V. 1997. Histochemical Investigation of Cadmium and Lead distribution in plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 44: 791-796.
 82. Seregin, I., y Kozhevnikova, A. 2008. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, and strontium. *Russ. J. Plant Physiol.* 55: 1-22.
 83. Singh, O., Labana, G., R. Budhiraja y Jain, R. 2003. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 405-412.
 84. The Mineral Database-mindat.org. 2004. Mineralogía de Huautla, Municipio de Tlaquiltenango, Morelos. Disponible en: <http://www.mindat.org/index.php>.
 85. Tu, C., Ma, L.Q. y Bondada, B., 2002. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *J. Environ. Qual.* 31: 1671-1675.
 86. Tung, G., y Temple, P. 1995. Histochemical detection of lead in plant tissues. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 906-914.
 87. Tung, G., y Temple, P. 1996. Uptake and Localization of Lead in Corn (*Zea mays* L.) Seedlings, a Study by Histochemical and Electron Microscopy. *Sci. Total. Environ.* 188: 71-85.
 88. US EPA.1994. Technical Document. Acid mine drainage prediction. EPA 530-R-94-036, NTIS PB94-201829. Environmental Protection Agency USA.
 89. US EPA.1997. Technology Alternatives for the Remediation of Soils Contaminated with As, Cd, Cr, Hg and Pb. EPA Document #EPA/540/5-97/500. United States Environmental Protection Agency Office of Emergency and Remedial Response, Washington, D.C.
 90. Van Deuren, J., Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. Disponible en: <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
 91. Velasco J.A., de la Rosa, A., Solórzano, G. y Volke-Sepúlveda, T. 2004. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. 1er Informe. Instituto Nacional de Ecología. 41 pp.
 92. Volke-Sepúlveda, T., Velasco, J.A., y de la Rosa, P.A. 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 141 pp.
 93. Villaseñor, R., Espinosa-García J. y Espinosa-García F. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo

Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México, D.F. Disponible en: www.conabio.gob.mx.

94. Wang, F., Lin, X. y Yin, R. 2005. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant Soil* 269: 225-232.
95. Wasay, S., Barrington, S., y Tokunaga, S. 1998. Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acids and chelating agents. *Environ. Technol.* 19: 369-379.
96. Younger, P.L. 2000. The longevity of mine water pollution: a basis for decision-making. *Sci. Total Environ.* 194-195: 457-466.
97. Ye, Z., Shu, W., Zhang Z., Lan C. y Wong M. 2002 Evaluation of major constraints to revegetation of lead/zinc mine tailings using bioassay techniques. *Chemosphere* 47: 1103-1111.
98. Yu-Jing, C., Yong-Guan, Z., Ri-Hong, Z., Deng-Yun, C., Yi-Zhong, H., Yi, Q. y Jian-Zhong, L. 2004. Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environ. Internat.* 30: 785-791.
99. Yu-Lin, H., Hai-Yan, Y., Su-Zhen, H., Zhi, G., Bing, X. y Jiguang G. 2007. Cadmium tolerance and accumulation by two species of *Iris*. *Ecotoxicology* 16: 557-563.
100. Zhao, F., Lombi, E. y McGrath, S. 2003. Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 249: 37-43.
101. Zhen-Guo, S., Xian-Dong, L., Chun-Chun, W., Huai-Man, Ch. y Hong. Ch. 2002. Lead Phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *J. Environ. Qual.* 31: 1893-1900.



Sociedad Mexicana de
Biotecnología y Bioingeniería, A.C.

CV

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

**Hernández-Zamora Miriam, Volke-Sepúlveda Tania,
Díaz-Pontones David, Gutiérrez-Rojas Mariano**

Por la presentación de su trabajo **FITOESTABILIZACIÓN DE PLOMO EN JALES MINEROS
POR Asphodelus fistulosus**, del área de Biotecnología Ambiental como Trabajo
Libre en el XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y el VII
Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras (SIPAL).



Congreso Nacional
de Biotecnología y Bioingeniería



21 a 26 de junio, 2009 · Acapulco, Guerrero

Dr. María Luisa Villarreal
Presidente de la SMBB

Dr. Alfredo Martínez Jiménez
Presidente del Comité Organizador

Dr. Maricarmen Quirasco Baruch
Presidente del Comité Científico



Certificate

The Advanced Materials Research Center and
The International Society of Trace Element Biogeochemistry certifies that

MIRIAM HERNÁNDEZ ZAMORA

Participated in the 10th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements
held in Chihuahua, Mexico, July 14 – 16, 2009.

Mat. Alarcón
Dra. Ma. Teresa Alarcón
10th ICOBTE Chair

[Signature]
Dr. Gary Pierzynski
ISTEB President

Chihuahua, Chih. Mexico ~ July 16, 2009



CHIHUAHUA
Gobierno del Estado
Secretaría de Desarrollo Científico y Tecnológico



México D.F. a 4 de Agosto del 2009

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la
Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

**Estudio de la acumulación de plomo y cadmio por *Asphodelus fistulosus* L.
y *Brassica juncea* L. para fitorremediar jales**

Que presentó

I.B.I. Miriam Azucena Hernández Zamora

Comité Tutorial:

Director: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas
Asesor: Dra. Tania L. Volke Sepúlveda
Asesora: Dr. David M. Díaz Pontones

Jurado:

Presidente:

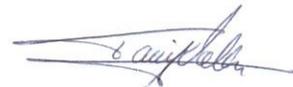
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa



Dr. Francisco Cruz Sosa

Secretario:

Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa



Dra. Tania L. Volke Sepúlveda

Vocal:

Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa



Dr. David M. Díaz Pontones

Vocal:

CINVESTAV Instituto Politécnico Nacional



Dra. Rosa O. Cañizares Villanueva