



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Pisum sativum L. y Cucurbita pepo L. como plantas
extractoras de Cd y Pb.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA

Cedillo Flores María Guadalupe

ÁREA: CIENCIAS AMBIENTALES
LABORATORIO DE CONTAMINACIÓN Y
FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ESTHER MATIANA GARCÍA AMADOR

México, D.F. Octubre 2015

FINANCIADO POR PROYECTO PAPIME: PE 202311





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

La presente tesis se la dedico con todo mi amor y esfuerzo a mi esposo, a mis hijas ya que ellos me apoyaron incondicionalmente en todo momento siendo mi motor e inspiración también el estímulo para lograr finalizar este proyecto.

Agradecimiento

A Dios.

Por darme salud y brindarme la oportunidad de llegar hasta este punto tan importante en mi vida profesional el cual representa para mí la superación personal y la firme convicción de que todo esfuerzo tiene una recompensa.

A mi padre y a mi madre por su esfuerzo para sembrar en mí la semilla del conocimiento el cual me permitió llegar hasta este punto.

A mi directora de tesis la Dra. Esther Matiana García Amador por su paciencia comprensión, gran apoyo, su tiempo, su asesoría y motivación para la elaboración de esta tesis.

A mis sinodales M. en C. Germán Calva Vásquez, Biól. Maricela Arteaga Mejía, Biól. Leticia López Vicente, Biól. Aida Zapata Cruz porque con sus sugerencias mejoraron esta tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme pertenecer a la máxima casa de estudios.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por la formación académica que me brindo para la terminación de mis estudios de Licenciatura en la carrera de Biología.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Metales pesados en suelo	4
2.2 Características de los metales pesados del estudio	6
2.2.1 Plomo (Pb)	6
2.2.2 Cadmio (Cd)	8
2.3 Contaminación por metales pesados	10
2.4 Fitorremediación	11
2.5 Plantas fitorremediadoras	12
3. Descripción de las especies	13
3.1 Calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	13
3.2 Chícharo (<i>Pisum sativum</i> L.)	16
4. PROBLEMÁTICA	18
5. JUSTIFICACIÓN	19
6. HIPÓTESIS	20
7. OBJETIVOS	20
7.1 Objetivos generales	20
7.2 Objetivos particulares	20

8. MATERIAL Y MÉTODOS	21
8.1 Área de estudio	21
8.2 Colecta de muestras del suelo	23
8.3 Germinación	23
8.4 Variables evaluadas	25
8.5 Análisis de las plantas	25
8.6 Análisis de suelo	26
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
9.1 Análisis físicos y químicos del suelo	28
9.2 Crecimiento de las especies vegetales	31
9.3 Supervivencia de las especies Vegetales	33
9.4 Concentración de metales pesados Cd y Pb en suelo	34
9.5 Concentración de metales pesados Pb y Cd en planta	35
9.6 Factor de Translocación (FT) e índice de Tolerancia (IT)	37
10. CONCLUSIONES	39
11. BIBLIOGRAFÍA	40
12. ANEXO	50

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.).	14
FIGURA 2. Chícharo (<i>Pisum sativum</i> L.).	17
FIGURA 3. Área de recolecta de suelo la Mina “La Blanca”.	21
FIGURA 4. Vista de la zona de colecta de suelo Cubitos.	22
FIGURA 5. Calabaza y Chícharo en la germinadora.	23
FIGURA 6. Semilla de Chícharo.	24
FIGURA 7. Semilla de Calabaza.	24
FIGURA 8. Planta de Chícharo.	24
FIGURA 9. Medición de la planta testigo de Chícharo (<i>Pisum sativum</i> L.).	25
FIGURA 10. Crecimiento de Calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.).	32
FIGURA 11. Presencia de clorosis en las hojas: a) Calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.) y b) Chícharo (<i>Pisum sativum</i> L.).	34
FIGURA 12. Clorosis en hoja de Calabaza.	36
FIGURA 13. Clorosis en hoja de Chícharo.	36

ÍNDICE DE CUADROS

	Páginas
CUADRO 1. Resultados de las pruebas físicas y químicas.	27
CUADRO 2. Concentración de metales pesados en suelo.	35
CUADRO 3. Concentración de metales pesados Pb y Cd en diferentes órganos raíz, tallo y hoja de <i>Cucurbita pepo</i> L. (Calabaza) y <i>Pisum sativum</i> L. (Chícharo).	37
Cuadro 4. Factor de translocación e índice de tolerancia en metales en los tratamientos de <i>Cucurbita pepo</i> L. y <i>Pisum sativum</i> L.	38

ÍNDICE DE GRAFICAS

	Páginas
GRÁFICA 1. Promedio del Crecimiento de los ejemplares <i>Cucurbita pepo</i> L. y <i>Pisum sativum</i> L.	31
GRÁFICA 2. Supervivencia de <i>Cucurbita pepo</i> L. y <i>Pisum sativum</i> L.	33

RESUMEN

Los metales pesados representan una amenaza ya que se acumulan en el suelo, y al estar en altas concentraciones de acuerdo a Kabata- Pendias & Pendias, 1984 para Cadmio 3-8 (mg/Kg)² y Plomo 100-400 (mg/Kg)². Pueden afectar el desarrollo de las plantas que al ser consumidas pueden ocasionar enfermedades a los animales y seres humanos; por lo que es necesario conocer como se ven afectadas las plantas en presencia de los metales pesados. En este trabajo se evaluaron a la calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y al chícharo (*Pisum sativum* L.), como posibles plantas extractoras de Plomo y Cadmio, también para conocer si tienen un potencial fitorremediador por lo que no podrían utilizarse para el consumo; para lo cual se trabajó con un testigo utilizando un suelo no contaminado y un tratamiento utilizando suelo de mina con Pd y Cd en concentración conocida, se evaluó el crecimiento semanalmente y porcentaje de supervivencia, para ver si afectaban las concentraciones de metales a las plantas, se cosecharon las plantas después de 12 semanas, se lavaron con agua desionizada para eliminar restos de suelo, se secaron hasta un peso constante, se separaron en sus diferentes órganos y se analizó su contenido de metales en la raíz, tallo y hojas, con estos resultados se realizó el índice de translocación para conocer el potencial fitorremediador y se analizaron las diferencias entre los dos tratamientos.

Los resultados obtenidos en cuanto a altura es que los testigos de chícharo y calabaza son mayores por 1.91 y 16.87 cm, respectivamente, a los tratamientos con diferencias estadísticamente significativas (Fisher con un 95% de confianza). La supervivencia fue mayor en testigos, chícharo 52.57% y calabaza 48% más que en los tratamientos con diferencias estadísticamente significativas (Fisher con un 95% de confianza). Las concentraciones mayores de Plomo se presentaron en la raíz de los tratamientos de las dos especies, para chícharo 50 mg/kg y en calabaza 155

mg/kg, ambas concentraciones se consideran críticas; solo en calabaza se presenta una translocación a hoja (96 mg/kg) y a tallo (38.8 mg/kg), consideradas críticas, a diferencia del chícharo donde solo se trasloca a tallo (24.2 mg/kg) ligeramente por arriba del rango normal, de acuerdo al índice de translocación, ambas especies son acumuladoras de Plomo. Para Cadmio solo se encontró en la hoja del tratamiento de calabaza (0.3 mg/kg) y en el tallo del tratamiento del chícharo (0.8 mg/kg) que es una concentración normal. De acuerdo al índice de tolerancia ambas especies son tolerantes. Derivado de los resultados se concluye que las dos especies son acumuladoras de Pb con una capacidad fitoextractora limitada, pero no son hiperacumuladoras.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los rasgos característicos de la sociedad moderna es la creciente emisión al ambiente de sustancias contaminantes, destacando aquellas que proceden de las actividades industriales, las cuales representan una fuente importante de contaminación de metales pesados, la producción de combustibles, la minería, la utilización de productos químicos agrícolas, la pequeña industria (incluida la producción de baterías, productos de metal, fundición de metales, las industrias de recubrimiento de cable), la combustión de carbón; la utilización de pesticidas, fungicidas y fertilizantes (Jadia & Fulekar, 2009). Durante estos procesos los contaminantes se liberan continuamente al agua y en el suelo (Wang et al., 2009).

Estos compuestos representan una amenaza para los seres vivos, por lo que se han desarrollado una serie de métodos para enmendar el impacto causado. Los métodos convencionales suelen ser costosos y pueden afectar de manera irreversible las propiedades del suelo, agua y de los seres vivos que en ellos habitan (Padmavathiamma & Li, 2007). Por lo que deben emplearse métodos más acorde con el medio ambiente como es la fitorremediación la cual se ha empleado para mitigar el impacto de metales pesados en el ambiente del suelo (Sung, Lee & Lee, 2011).

Cuando las tecnologías de remediación se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación (también se usan: fitorrecuperación, fitocorrección, fitorrestauración o fitorrehabilitación) (Carpena & Bernal, 2007).

La fitorremediación consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. Esta novedosa tecnología tiene muchas

ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos en lugares contaminados; en primer lugar es una tecnología de bajo costo, en segundo lugar, posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y en tercer lugar su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal (Prieto, González, Román & Prieto, 2009).

La contaminación del medio se define como la presencia de algún constituyente, causado por la actividad humana, en una concentración tal que afecta negativamente a su funcionamiento y a los organismos vivos presentes en él (Rodríguez-Ortiz et al., 2006). Se han empleado los metales pesados y se han documentado serios problemas asociados a éstos. Los metales pesados en el suelo, suponen un riesgo por: su lixiviación hacia aguas superficiales y subterráneas, absorción por las plantas, y finalmente, el paso a la cadena trófica. Cuando se dan niveles muy altos de biodisponibilidad, tanto los elementos esenciales (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo) como los no esenciales (Cd, Pb, Hg, Cr) pueden ser tóxicos. La amenaza que suponen para la salud humana y animal se agrava por su larga persistencia en el suelo. Estos, se encuentran generalmente en bajas concentraciones en el medio ambiente aunque, como resultado de actividades antropogénicas, sus niveles se han incrementado, creando condiciones de contaminación (Carpena & Bernal, 2007). Por lo cual pueden ser extraídos por las plantas; en este trabajo se analizará si la calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y el chícharo (*Pisum sativum* L.) son plantas fitoacumuladoras de Cd y Pb.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Metales pesados en el suelo

Los metales pesados son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (Vardanyan & Ingole, 2006). Aunque para efectos prácticos en estudios medioambientales se amplía esta definición a todos aquellos elementos

metálicos o metaloides, de mayor o menor densidad, que aparecen comúnmente asociados a problemas de contaminación (Ortiz, Sanz, Dorado & Villar, 2007).

Se consideran metales pesados al Plomo, Cadmio, Cromo, Mercurio, Zinc, Cobre, Plata y Arsénico, y constituyen un grupo de gran importancia ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos (Spain, 2003).

La acumulación de metales pesados en las plantas inhibe o activa algunos procesos enzimáticos que afectan su productividad tanto cualitativa como cuantitativamente (Miteva, Maneva, Hristova & Bojinova, 2001). El Plomo (Pb), el Arsénico (As) (Codling & Ritchie, 2005), el Cadmio (Cd) y el Zinc (Zn) y otros metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas hasta concentrarse en sus tejidos a niveles tóxicos. Tal situación puede ser una posible vía de entrada de estos metales en la cadena trófica humana a través del consumo de plantas, directa o indirectamente por los seres humanos (Mortvedt, 1996; Chien, Carmona, Prochnow & Autin, 2003). Los mecanismos de tolerancia varían entre las distintas especies de plantas y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción, translocación y secuestro.

Las fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes (Navarro, Aguilar & López, 2007).

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica (Navarro et al., 2007).

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligando específicos. Entre los quelantes

producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas.

Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos. Las metalotioneinas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu (Navarro et al., 2007).

Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola (Navarro et al., 2007).

2.2. Características generales de los metales pesados del estudio

2.2.1 Plomo (Pb)

Se ubica en el grupo IVA (metales) en la tabla periódica. El Pb es un metal gris azulino que se presenta en forma natural y en pequeñas cantidades (0.002%) en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos. Este elemento, es generalmente obtenido de la galena (PbS), la anglesita (PbSO₄) y la curosita (PbCO₃) (ATSDR, 2005).

El Pb no es biodegradable y persiste en el suelo, aire, agua. Las fuentes de contaminación por Pb, son múltiples e incluyen a las fundidoras, algunas pinturas, la loza de barro vidriado cocida a baja temperatura y las gasolinas con tetra-etilo de Plomo (que se dejaron de usar en México en 1997). Cuando es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos. Puede resultar tóxico para los sistemas endócrino, cardiovascular, respiratorio, inmunológico,

neurológico, y gastrointestinal además de poder afectar la piel y los riñones (ATSDR, 2007).

El Pb, en el suelo, se encuentra principalmente en forma de Pb^{2+} , también es conocido su estado de oxidación $+4$. Algunos de los compuestos insolubles son $Pb(OH)_2$, $PbCO_3$, PbS , $PbSO_4$. La velocidad de oxidación depende de factores como la humedad, la temperatura, el pH, el potencial redox, la cantidad de materia orgánica o la roturación de los suelos (Guitart, 2005). Este elemento es una de las bases de la civilización tecnológica, ya que infinidad de industrias lo utilizan como materia prima o como componente básico de sus productos. Su intenso uso se debe a una serie de propiedades que lo hacen imprescindible en algún tipo de industrias. Entre estas propiedades las más importantes son: densidad elevada, punto de fusión bajo, inercia química entre los ácidos, ductilidad, muchas de sus sales son corrosivas y algunas de sus sales son fuertemente tóxicas. La contaminación natural por Plomo es pequeña. La contaminación artificial, es decir aquella procedente de la actividad humana es grande (Seoáñez & Calvo, 1999).

Aunque el Plomo no es un elemento esencial para las plantas, se absorbe fácilmente y se acumula en diferentes partes de las plantas. La absorción de Plomo en las plantas está regulado por el pH, capacidad de intercambio catiónico de los suelos, así como por la exudación de las raíces y otros parámetros físico-químicos. El exceso de Plomo provoca una serie de síntomas de toxicidad en las plantas como retraso del crecimiento, clorosis, alteración de la concentración de Ca y K inhibe la mitosis, ennegrecimiento de las raíces; inhibición en los procesos la fotosíntesis, respiración y absorción de agua, altera la nutrición mineral, afecta la estructura de la membrana y la permeabilidad (Akinci, Akinci & Yilmaz, 2010).

2.2. 2 Cadmio (Cd)

El Cadmio (Cd) es un metal altamente perjudicial, se estima que su vida media es aproximadamente de 15 a 30 años (Henson & Chedrese, 2004; Maruthi, Dile, Han, Monts & Su, 2005). Es de 2 a 20 veces más tóxico que otros metales y como ocurre en muchos otros, no puede ser química o biológicamente degradado ni transformado en un compuesto menos tóxico (Morrow, 1990; UNEP, 2008-2010). Su concentración en un suelo no contaminado, según la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA, 1999), debe mantenerse en niveles inferiores de 1 mg/Kg. Como todos los metales pesados, el Cd puede acumularse en los organismos, transferirse de un nivel trófico al siguiente y multiplicar su concentración a lo largo de la cadena trófica (De Acevedo, 2003). Por tanto, no sólo causaría problemas en la salud, sino también importantes pérdidas económicas para aquellos países que exportan gran parte de su producción agrícola. El Cd generado por erupciones volcánicas y actividades antropogénicas es removido de la atmósfera por deposición de partículas o por precipitación, para luego ser transportado a ríos y océanos. De igual forma, los efluentes industriales con Cd llegan a los ríos donde es absorbido por la materia particulada y acumulado en sedimentos (Salazar & Reyes, 2000).

El Cd puede combinarse con otros elementos y formar compuestos (cloruros, óxidos o sulfuros) que se unen fuertemente a las partículas del suelo permaneciendo en él por muchos años. Por otro lado, la aplicación reiterada de fertilizante fosfatados incrementa las cantidades de Cd en el suelo y pueden llegar a afectar los cultivos (Bonomelli, Bonilla & Valenzuela, 2003).

El Cadmio es un elemento natural de la corteza terrestre. Todos los suelos y rocas, incluso el carbón y abonos minerales, contienen una cantidad de este metal. El Cd, entra al suelo, agua y aire durante actividades industriales, de minería, durante la combustión de carbón y desechos domésticos, revestimiento de metales y plásticos.

Respirar niveles altos de Cd puede dañar gravemente los pulmones. Ingerir alimentos o tomar agua con niveles muy altos produce irritación grave del estómago causando vómitos y diarrea. La exposición prolongada a niveles más bajos de Cd en el aire, los alimentos o el agua produce acumulación de éste en los riñones y posiblemente enfermedad renal. Otros efectos de la exposición prolongada consisten en daño del pulmón y fragilidad de los huesos (ATSDR, 2008).

Aunque el Cadmio no es un elemento esencial para las plantas, éstas lo absorben por la raíz y las hojas, puesto que su solubilidad depende del pH, su captación en las plantas se relaciona con el pH en el suelo. En general, una fracción se absorbe de manera pasiva por las raíces y otra de modo metabólico (Cervantes & Moreno, 1999). Lo cual interfiere en la entrada, transporte y utilización de elementos esenciales (Ca, Mg, P, K) y del agua, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta (Rodríguez, Martínez de la Casa, Romero, Del Río & Sandillo, 2008).

La absorción de Cadmio de un cultivo no sólo depende de la actividad del ion metálico en la solución del suelo, sino también de las relaciones que existen entre los iones en solución y los iones en fase sólida (Sánchez, Rivero & Martínez, 2011).

Los efectos que describen Cervantes & Moreno, (1999) del Cd en las plantas son: retardo en el crecimiento, daño a la raíz, clorosis en las hojas, interferencia con el metabolismo de algunos micronutrientes, inhibición de la fotosíntesis, de la fijación del CO₂ y de la transpiración, la modificación de la permeabilidad de membranas celulares y destrucción de organelos y células, inhibe la síntesis de antocianinas y clorofila, disminuye la eficiencia fotoquímica del fotosistema II en el estado estacionario, reduciendo el decaimiento de la fluorescencia y el rendimiento cuántico para el transporte de electrones y aumentando el decaimiento no fotoquímico de la fluorescencia, también induce la desaparición del apilamiento de los grana, la degradación de los lípidos del tilacoide, liberación de algunos péptidos asociados con el complejo liberador de oxígeno y la desorganización del sistema antena.

El Cd interactúa con varios elementos contaminantes de las plantas, modificando su captación y sus efectos bioquímicos: el Zn y Cu reducen la captación del Cd en la raíz y las hojas (Cervantes & Moreno, 1999).

2.3 Contaminación por metales pesados

Se reporta que en el año 2002 la liberación de metales pesados mundialmente llegó a 22.000 toneladas de Cadmio, 93,900 toneladas de cobre, 783.000 toneladas de Plomo y 1,35 millones de toneladas de Zinc (Turgut, Pepe & Cutright, 2005).

Los metales pueden alcanzar niveles de concentración que provocan efectos negativos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo como disminución de nutrientes, variación del pH generando suelos ácidos, amplias fluctuaciones en la temperatura, diversidad y actividad en los microorganismos de la rizósfera, dificultan en el crecimiento de una cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, erosión del suelo, y la dispersión de los contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes, como consecuencia aumenta la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, afectando su desarrollo (Sierra, 2006).

Actualmente los estudios encargados de recuperar suelos contaminados se basa en estrategias que utilizan plantas (Nayek, Gupta & Saha, 2010).

El aumento de los costos y la limitada eficacia de los tratamientos fisicoquímicos han estimulado el desarrollo de nuevas tecnologías. Por lo que, la fitorremediación representa una alternativa sustentable y de bajo costo para la rehabilitación de ambientes afectados por contaminantes naturales y antropogénicos (Singh & Jain, 2003; Reichenauer & Germida, 2008).

2.4 Fitorremediación

Es un conjunto de tecnologías que reducen *in situ* o *ex situ* la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas (Delgadillo-López et al., 2011). Las plantas, se emplean para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar contaminantes (Kelley, Gaither, Baca & Cruickshank, 2000); (Miretzky, Saralegui & Fernández, 2004); (Eapen, Singh & D'Souza, 2007); (Cho, Yavuz, Park & Sung, 2008); (Cherian & Oliveira, 2005). Se ha identificado una amplia diversidad de especies que se emplean para este fin. Algunas de ellas, debido a su gran capacidad para acumular metales pesados, reciben el nombre de hiperacumuladoras. Esta tecnología se hace más efectiva a través de la manipulación genética, lo que mejora la capacidad de remediación de las plantas (Cherian & Oliveira, 2005).

Estas fitotecnologías se pueden aplicar tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos, presentes en sustratos sólidos, líquidos o en el aire, de acuerdo a Carpena & Bernal, 2007 se distinguen:

Fitoextracción: uso de plantas acumuladoras de elementos tóxicos o compuestos orgánicos para retirarlos del suelo mediante su absorción y concentración en las partes cosechables.

Fitoestabilización: uso de plantas para reducir la biodisponibilidad de los contaminantes en el entorno, mejorando las propiedades físicas y químicas del medio.

Fitoimmobilización: uso de las raíces de las plantas para la fijación o inmovilización de los contaminantes en el suelo.

Fitovolatilización: uso de plantas para eliminar los contaminantes del medio mediante su volatilización y para eliminar contaminantes del aire.

Fitodegradación: uso de plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes orgánicos.

Rizofiltración: uso de raíces para absorber y adsorber contaminantes del agua y de otros efluentes acuosos.

2.5 Plantas fitorremediadoras

Las plantas denominadas fitorremediadoras, poseen como atributos ideales la capacidad para acumular el (los) metal (es) de interés, preferiblemente en la parte superior de la planta; son tolerantes a la concentración del metal acumulado; crecen rápido; generan elevada producción de biomasa; resultan fácilmente cosechables y contienen sustancias que impide que los herbívoros las consuman, para prevenir la transferencia de metales pesados a la cadena trófica (Garbisu & Alkorta, 2001).

Dentro de las plantas fitorremediadoras destacan las plantas llamadas hiperacumuladoras (Lasat, 2002). Por definición, estas plantas deben acumular al menos 100 µg/g (0.01 % peso seco) de Cd y As; 1000 µg/g (0.1 % peso seco) de Co, Cu, Cr, Ni y Pb; y 10 000 µg/g (1.0 % peso seco) de Mn (Watanabe, 1997; Reeves, Baker, Borhidi & Berazain, 1999; McGrath, Zhao & Lombi, 2001; Kamal, Ghaly, Mahmoud & Cote, 2004; Yang et al., 2004; Reeves, 2006; Padmavathiamma & Li, 2007). Estas diferencias en la absorción de metales pueden ser atribuidas precisamente a la capacidad de retención del metal en cuestión, por el suelo de cultivo y a la interacción planta-raíz-metal y al metabolismo vegetal propio (Prieto et al., 2009).

Índice de Tolerancia

Wilkins, (1957), desarrolló un índice basado en la cuantificación de los efectos inhibitorio de los iones metálicos en el crecimiento radical. De esta manera, cuanto mayor es la longitud de la raíz en la disolución que contiene el metal, mayor es el índice de tolerancia (Bradshaw & Mc, 1985).

IT = (Medida de la longitud de la raíz en solución con metal/Medida de la longitud de la raíz en solución sin metal) *100 (Wilkins, 1978).

Factor de Translocación (FT)

Relaciona la acumulación de metales en la parte aérea con respecto a la raíz y es usado para medir la efectividad de la planta en la translocación de metales pesados desde la raíz hacia la parte aérea (SUN, Zhou & Diao, 2008).

TF = C Tallos / C Raíces, donde C representa la concentración del metal en tallos y raíces (Fellet, Marchiol, Perosa & Zerbi, 2007).

3. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES

3.1 Calabaza (*Cucurbita pepo* L.)

El género *Cucurbita* (Figura 1) es nativo del continente americano, donde fueron especies, comestibles desde los albores de la agricultura. Incluye cerca de 27 especies que pueden ser anuales o perennes de raíces profundas con tallos ásperos al tacto, rastreros y de crecimiento indefinido con hojas grandes y anchas, más o menos lobulados, Lóbulos foliares muy diferenciados.

Al igual que las hojas los tallos presentan pelos punzantes, flores monoicas (masculinas y femeninas) de color amarillo, de polinización alógama, semillas color blanquecino amarillento, marginadas, ápice truncado recto; el fruto de *Cucurbita* se clasifica botánicamente como pepónide, un fruto carnoso. Pedúnculo duro con ángulos y surcos bien marcados. Inserción del pedúnculo no expandida.

Son cultivadas principalmente para el consumo de sus frutos al estado maduro o inmaduro. Pero también se consumen otras partes de la planta como las hojas, las flores y las semillas de los frutos. Los nombres comunes más difundidos en la lengua española son los de Zapallo o calabaza (Whitaker & Davis, 1962; Nayar & More, 1998; Robinson & Decker –Walkers, 1997).

Son plantas muy exigentes en calor, la temperatura óptima para la germinación va de 25 a 30 °C y se inhibe por debajo de los 15 °C, en general, el rango de pH está entre 6 - 8.2 pueden resistir la acidez, requiere de suelos de mediana profundidad, con un mínimo de 50 cm de suelo, suelos bien drenados, la textura de suelo óptima para su desarrollo suelos francos, franco-arenosos y franco-arcillosos, pero puede adaptarse sin excesivos problemas a suelos pobres, cascajosos y moderadamente alcalinos. La máxima exigencia en riego las tiene en la fase de engrosamiento de los frutos. Por la gran profundidad de sus raíces (Mateo, 2005).



Clasificación científica

Reino: Plantae,
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Violales
Familia: Cucurbitaceae
Género: *Cucurbita*

Figura 1. Calabaza (*Cucurbita pepo* L.).

En cuanto a investigaciones con *Cucurbita pepo* L.

Lu et al., (2013) investigaron el efecto del estrés de Cu en la absorción, transporte y metabolismo de éter dedecabromodifenilo (BDE-209) en calabaza. Las concentraciones del total de desbromado, metabolitos hidroxilados o metoxilados siguieron generalmente el orden de raíces> tallos> hojas. Los resultados indicaron que el metabolismo ocurrido preferentemente en las raíces que en los tallos y las hojas.

La adición de dosis moderada de Cu (50mg/Kg) dio lugar a incremento en las concentraciones de OH-PBDE en tejidos de la planta, mientras que las concentraciones más altas de Cu podrían inhibir la absorción y el metabolismo de BDE-209. No se detectó ninguna mineralización in vivo de BDE- 209 en las plantas. Estos resultados proporcionan información valiosa sobre el comportamiento de BDE-209 en los tejidos vegetales en virtud de exposición a metales pesados .

Solís et al., (2012) estudiaron el efecto del suelo contaminado con Plomo en el híbrido experimental de Calabacita (*Cucurbita pepo* L.). Evaluando distribución de la producción de biomasa, altura de planta, contenido de clorofila y acumulación de Plomo en raíz, tallo, hoja, flor y fruto. Los tratamientos fueron 0, 65, 300 y 1000 ppm de Plomo aplicado al suelo a través de $Pb(NO_3)_2$. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con seis repeticiones. Las evaluaciones se hicieron 50 días después del trasplante para altura de planta y contenido de clorofila, y a los 52 días para peso fresco, peso seco y acumulación de Plomo. Se observó que la altura de planta fue significativamente menor cuando se aplicó Plomo a cualquier dosis. También se observó que la mayor acumulación de biomasa en raíz y tallo fue producida con la dosis 300 ppm y en fruto con 65 ppm de Plomo, en tanto que la biomasa total y las unidades SPAD (clorofila) no resultaron afectadas. En cuanto a las estructuras comestibles, la flor presentó una mayor acumulación del metal que el fruto. A bajas dosis de Plomo, la flor fue la estructura que más lo acumuló.

Almanza et al., (2009) evaluaron el efecto de la aplicación foliar de Níquel en plantas de *Cucurbita ficifolia* (lacayote), en concentraciones de 1,0; 2,5 y 5,0 mg L⁻¹ y un testigo sin aplicación; se valoró la incidencia en las semillas para la producción de ureasa cristalina, con el fin de realizar estudios enfocados a una mejor producción de ureasa y aprovechando la relación del Níquel con esta enzima. Se observó el crecimiento y desarrollo morfológico de las plantas desde la primera aplicación hasta fructificación. Se determinó la cantidad de Níquel y ureasa en las semillas, liofilizando la ureasa obtenida, el efecto de las concentraciones de enzima y sustrato, temperatura y pH sobre la actividad enzimática de la ureasa. Se analizó y se comparó la enzima obtenida con la ureasa de uso clínico en muestra de orina. En todas las plantas, el Ni causó fitotoxicidad; el crecimiento de frutos y semillas fue indirectamente proporcional a las concentraciones aplicadas. La adición de 1,0 y 2,5 mg L⁻¹ de Ni fue soportada por las plantas, pero se presentó clorosis intervenal. Las concentraciones de 5,0 mg L⁻¹ de Ni causaron senescencia total de flores en 100% de las plantas, impidiendo la fructificación. La cantidad de ureasa obtenida fue directamente proporcional a las concentraciones de Níquel aplicadas. En todos los estudios catalíticos evaluados, la actividad de la ureasa en su orden fue: 1,0 mg L⁻¹ de Ni > testigo > 2,5 mg L⁻¹ de Ni. La ureasa obtenida de cada uno de los tratamientos tuvo rendimiento menor que la ureasa comercial.

3.2. Chícharo (*Pisum sativum* L.)

Género típico del antiguo continente, procedente de los centros de Asia Central cercano oriente y mediterráneo. Su historia como plantas cultivadas es muy antigua y su empleo en la alimentación humana y los animales domésticos se remonta hasta el hombre neolítico.

El chícharo o guisante es un cultivo de invierno-primavera. Según las regiones, puede sembrarse en otoño, prolongándose su ciclo hasta finales de primavera; y también puede sembrarse en enero-febrero, llegando su ciclo hasta el comienzo del

verano. Dado que es una especie que tolera bien las bajas temperaturas invernales, incluyendo las heladas, puede adaptarse el ciclo de cultivo a los requerimientos de cada zona.

El chícharo (*Pisum sativum* L.) (Figura 2), es una especie anual, los tallos son trepadores y angulosos; el sistema radicular es poco desarrollado en conjunto, aunque posee una raíz pivotante que puede llegar a ser bastante profunda. Las hojas tienen pares de folíolos y terminan en zarcillos, que tienen la propiedad de asirse a los tutores que encuentran en su crecimiento. La inflorescencia es racemosa, con brácteas foliáceas, que se inserta por medio de un largo pedúnculo en la axila de las hojas.

Las flores son de morfología típicamente papilionácea, y poseen simetría zigomorfa, es decir, con un solo plano de simetría. Consta de 5 sépalos, siendo los dos superiores variables, tanto en forma como en dimensiones, lo cual se utiliza como carácter varietal. El óptimo de pH está entre 6.0 y 7.0, tolera la salinidad, agradece la humedad del suelo, pero no en exceso por que la semilla se pudre, precisan de suficiente caliza, la planta de esta variedad alcanza normalmente alrededor de los 80 cm. de altura, tiene flores blancas y produce vainas comienza a florecer alrededor de 60 días después de la germinación (Mateo, 2005).



Figura 2. Chícharo (*Pisum sativum* L.).

Clasificación Científica

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae (Leguminosae)
Género: *Pisum*

En cuanto a investigaciones con *Pisum sativum* L.

Castaldi et al., (2009) evaluaron los efectos de varias enmiendas, en particular zeolita, barro rojo (un subproducto de la fabricación de Aluminio) y cal en la disminución de la biodisponibilidad y fitotoxicidad de Pb, Cd y Zn presente en un suelo ácido contaminado (pH=4,2) con *Pisum sativum* L. y *Triticum vulgare* y se encontró que especialmente las leguminosas, contribuyeron a enriquecer la complejidad biológica del suelo y la funcionalidad. Se demostró que el uso combinado de las plantas y enmiendas representa un factor clave para el éxito de los ecosistemas y su recuperación.

Hattab et al., (2009) estudiaron los efectos fisiológicos del Cadmio y el Cobre en (*Pisum sativum* L.) manejándose concentraciones altas de estos metales y encontrándose efectos inhibitorios de Cadmio en la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas de guisantes, marcando la importancia del estudio para suelos utilizados en la agricultura orgánica.

4. PROBLEMÁTICA

Los metales pesados, se encuentran generalmente en bajas concentraciones en el medio ambiente, aunque como resultado de actividades antropogénicas, sus niveles se han incrementado en una concentración tal que afecta negativamente a su funcionamiento y a los organismos vivos presentes en él (Carpena & Bernal, 2007) pero su mayor problema es la persistencia, acumulación progresiva y/o transferencia a la cadena alimentaria supone una amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas (Gulson, 1996; Becerril et al., 2007). Bowen, (1979) señala que en suelos templados la permanencia para el Cd es de 75 a 380 años, Hg 300 a 1000 años y Ag, Cu, Ni, Pb, Se y Zn 1000 a 3000 años. El incremento de los residuos durante las explotaciones mineras, entre ellos los materiales piríticos (Williamson, Johnson & Bradshaw, 1982), aumenta la concentración de los metales en los

horizontes superficiales, del suelo. Una alta concentración de metales pesados afecta la biota ya que se producen interacciones a nivel celular y/o molecular. Además, también queda afectada la calidad del suelo ya que inhibe la descomposición de la materia orgánica y los procesos de mineralización del N, ocasionando graves problemas para el desarrollo y mantenimiento de la cubierta vegetal (García & Dorronsoro, 2005; Hall, 2002; Selim & Kingery, 2003; Wong, 2003).

Por lo que las preguntas a resolver son:

¿El chícharo (*Pisum sativum* L.) y la calabaza (*Cucurbita pepo* L.) serán fitoextractores de Pb y Cd?

¿En qué parte vegetativa de chícharo *Cucurbita pepo* L. y calabaza *Pisum sativum* L. se aloja el Cd y Pb?

5. JUSTIFICACIÓN

Se han estudiado cierto grupo de plantas por su tolerancia a concentraciones extremas de metales, tanto en suelos naturales como antropogénicos (Kidd, Becerra, García & Monterroso, 2007), gracias a mecanismos fisiológicos para resistir, tolerar y sobrevivir en estos suelos (Whiting et al., 2004).

Es importante conocer si *Pisum sativum* L. (chícharo) y *Cucurbita pepo* L. (calabaza) son extractoras de metales pesados Cd y Pb ya que hay escasos trabajos de investigación sobre estas especies, las cuales tienen alto valor comercial, y se emplean en la dieta alimenticia. Es importante ya que algunos suelos de minas abandonadas, son utilizados como terrenos de cultivo, por lo que si estas especies son extractoras de metales pesados puede crear problemas de toxicidad sobre animales y la salud humana al ser consumidas

6. HIPÓTESIS

Si *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. translocan Cadmio y Plomo serán consideradas como fitoextractoras.

Si *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. translocan Cadmio y Plomo en sus partes aéreas, será un riesgo su consumo para la salud.

De acuerdo al Índice de Tolerancia y al Factor de Translocación en *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. podrán ser clasificadas como plantas fitorremediadoras (acumuladoras).

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad fitoextractora de *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. en suelos mineros con Cd y Pb.

7.2 Objetivos particular

Determinar la concentración de Cd y Pb, en los diferentes órganos (raíz, tallo, hoja) de *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. para conocer en donde se concentran más los metales de Cd y Pb.

Evaluar el crecimiento semanal de (tallo y hojas), de *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. y su supervivencia, para observar si se ven afectadas por las concentraciones de Cd y Pb presentes en el suelo.

Evaluar el potencial fitorremediador de *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. por medio del Índice de Tolerancia y Factor de Translocación (FT).

8. MATERIAL Y MÉTODO

8.1 Área de estudio

El estado de Hidalgo es rico en yacimientos de Oro, Plata, Cobre, Zinc y Mercurio, que se envían a otras entidades de México y al extranjero, para su industrialización. En el estado las compañías mineras Real del Monte y Pachuca, S.A. y Minera Autlán son las más importantes (COREMI, 1992). La ciudad de Pachuca, Hgo. tiene jales de mina que resultaron de la acumulación de más de 200 años; el método de beneficio empleado en este distrito minero para la extracción del Au y Ag fue principalmente por amalgamación con Hg y por cianuración; en este estado se encuentra la mina “La Blanca” abandonada desde hace 50 años.



vista panorámica del sitio de muestreo (a)

Figura 3. Área de recolecta de suelo La Mina “La Blanca”.

La Mina "La Blanca" en Pachuca Hidalgo, se encuentra a 2541 msnm, latitud 20° 07.054' Norte y longitud 98° 41.387' Oeste (Figura 3), en una zona accidentada que cuenta con un 60% de roca y restos de lo que fue un matorral xerófilo crasicaule (se encontraron algunos magueyes y nopales, pirules esporádicos) y con su suelo muy erosionado.

El Parque Ecológico Cubitos, fue decretado como área natural protegida, en la categoría de parque estatal el 30 de diciembre del 2002, en una superficie de 132 ha. Se localiza en Pachuca Hidalgo, entre los paralelos 20° 06' 33" de longitud oeste y 98° 44' 60" de latitud norte. Pertenece al sector del parte agua de la Región Sur de la Sierra de Pachuca y los lomeríos que lo conforman se ubican en la Provincia Ecológica de los Lagos y Volcanes de Anáhuac.

El parque se encuentra dividido en tres zonas: zona de recuperación, zona de uso restringido y zona de uso intensivo; las dos primeras corresponden a la reserva ecológica del Parque y en la última se han construido obras como la Casa Ecológica (ecotecnias), Museo Natural (eco regiones del Estado), Tuzuario (ciclo biológico de roedores menores "tuzas"), así mismo cuenta con un jardín botánico (cactáceas, agaves y opuntias, etc.), un bosque (diferentes especies de pinos), un laberinto, 17 viveros y por último el Centro de Información y Documentación del Medio Ambiente (CIDMA) (Figura 4).



Figura 4. Vista de la zona de colecta de suelo Cubitos.

8.2 Colecta de muestras del suelo

Se tomaron muestras simples al azar de diferentes puntos de la mina “La Blanca” (el área a estudiar comprende aproximadamente 1000 m²) ya que tiene Pb y Cd por ser una mina abandonada, se ubicaron 25 puntos, para colecta de suelo y formar una muestra compuesta. Para los testigos se empleó suelo del parque Ecológico “Cubitos” en Hidalgo que se muestreo de la misma manera.

8.3 Germinación

Se seleccionaron 100 semillas de cada especie de calabaza y de chícharo, se desinfectaron con una solución de cloro al 5% por 10 minutos, posteriormente se prepararon en cajas Petri (colocando algodón humedecido como base y una capa de papel filtro), se colocaron 5 semillas por caja y colocaron en una germinadora (Figura 5), marca Friocell modelo 111, a 80 % de humedad, 12 horas de luz y 12 de oscuridad a 28°C.



Figura 5. Calabaza y chícharo en la germinadora

Una vez emergida la radícula (Figura 6 y 7), se trasplantaron a bolsas negras de vivero de 35 x 35 cm (Figura 8). Para los testigos se empleó suelo del parque Ecológico “Cubitos” en Hidalgo y para el tratamiento suelo de mina; se seleccionaron 20 individuos por cada especie (20 se les sometió a tratamiento con suelo de mina y 20 fueron testigos). Se colocaron en un bancal del vivero de la Facultad las muestras se etiquetaron y rotaron cada semana para que todas tuviesen las mismas condiciones ambientales. Se mantuvieron a capacidad de campo con agua destilada.



Figura 6. Semilla de chícharo



Figura 7. Semilla de calabaza

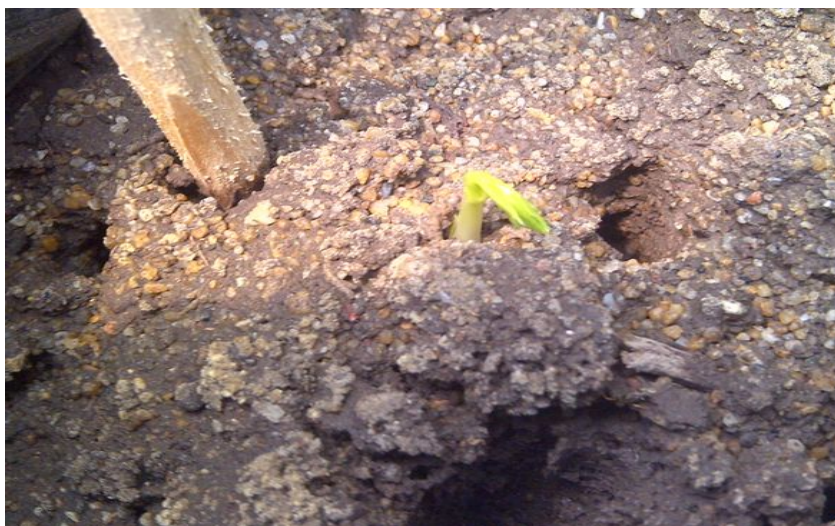


Figura 8. Planta de chícharo

8.4 Variables Evaluadas

Se evaluó semanalmente la altura y supervivencia de los individuos (testigo y tratamiento), inicio de floración y fructificación. La concentración de metales pesados en raíz, tallo y hoja después de la cosecha y el factor de translocación que se calculó de acuerdo a la ecuación:

$Tf = C_{\text{Tallos}} / C_{\text{Raíces}}$, donde C representa la concentración del metal en tallos y raíces (Shu, Ye, Lan, Zhang & Wong, 2002).

8.5 Análisis de planta

Después de 12 semanas fueron extraídas las plantas de cada tratamiento; a cada ejemplar se le retiró el exceso de suelo evitando romper la raíz, se midió el total de la planta (Figura 9), posteriormente se midió raíz y parte aérea, se pesó y se lavó con agua desionizada para retirar el suelo restante y polvo que había en parte aérea; se dividieron los órganos de las plantas en raíz, tallo, hoja y se depositaron en bolsas de papel previamente etiquetadas; se llevaron a estufa a 50°C para deshidratarlas hasta peso constante. Una vez secas, se pasaron a un molino eléctrico hasta obtener una muestra totalmente triturada de los diferentes órganos y se realizaron muestras compuestas de cada órgano (raíz, tallo y hojas) por separado de cada especie.



Figura 9. Medición de la planta testigo de chícharo (*Pisum sativum* L.)

Posteriormente para la determinación de metales pesados se realizó por el método de digestión triácida (Radojevic & Bashkin, 1999). La lectura por espectrofotometría de absorción atómica, en un equipo marca Varian Spectra A200.

8.6 Análisis de suelo

Las muestras de suelo de los tratamientos fueron secadas, pesadas y almacenadas como se indica en la NOM-021-RECNAT-2000 y se les determinaron los siguientes parámetros:

- El pH relación 1:2 (Etchevers, 2001).
- Textura por el método del Bouyoucos, método AS-09 (NOM-021-RECNAT-2000).
- Materia Orgánica se realizó a través del método de Walkley y Black, método AS-07 (NOM-021-RECNAT-2000).
- Conductividad eléctrica (Etchevers, 2001).
- Densidad aparente por el método de la probeta (Ríos, 1985).
- Densidad real por el método del picnómetro (Ríos, 1985).
- Nitrógeno por el método micro Kjeldahl, método AS-08 (NOM-021-RECNAT-2000).
- Fósforo extractable por el método de Olsen, método AS-10 (NOM-021-RECNAT-2000).
- Potasio, Sodio, Calcio, Magnesio por el método de acetato de amonio, método AS12 (NOM-021-RECNAT-2000).
- Para la determinación de metales pesados se utilizó el método de agua regia (Radojevic & Bashkin, 1999) y la lectura fue realizada por espectrofotometría de absorción atómica, en un equipo marca Varian Spectra A200 (Zapata & Galván, 2004).

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Análisis físicos y químicos del suelo

Cuadro 1. Resultados de las pruebas físicas y químicas.

	Suelo testigo Calabaza	Suelo Tratamiento Calabaza	Suelo testigo Chicharo	Suelo Tratamiento Chicharo
pH	7.77 medianamente alcalino*	6.54 moderadamente ácido*	7.71 Neutro*	6.73 Neutro*
Textura	Franca Arenosa*	Franca arcillosa arenosa*	Franca Arenosa*	Franca arcillosa arenosa*
% Materia Orgánica	5.83 Alto*	3.41 medio*	1.79 Medio*	5.92 Alto*
% Nitrógeno	0.29 Alto*	0.17 Levemente Alto*	0.09 levemente bajo*	0.30 Alto*
C.E (mmhos)	0.45 Efectos despreciables de salinidad*	1.66 Muy ligeramente salino*	0.38 Efectos despreciables de salinidad*	1.35 Muy ligeramente salino*
Densidad Aparente g/cm ³	1.21	0.86	1.14	0.86
Densidad real g/cm ³	2.01	2.36	3.17	1.90
Fosforo (mg kg ⁻¹)	19 Alto*	18.67 Medio*	21.6 Alto*	16.44 Medio*
Ca (Cmol (+) kg ⁻¹)	19.54 Alto*	93.27 Alto*	16.87 Alto*	98.19 Alto*
Mg (Cmol (+) kg ⁻¹)	7.97 Alto*	2.24 Alto*	7.97 Alto*	1.93 Alto*
K (Cmol (+) kg ⁻¹)	1.83 Alto*	2.01 Alto*	1.79 Alto*	1.30 Alto*
Na (Cmol (+) kg ⁻¹)	0.81	8.79	1.20	3.77

*Clasificado de acuerdo a la (NOM-021-RECNAT-2000).

Los resultados de los parámetros físicos y químicos evaluados se observan en el (cuadro 1). Los valores de pH obtenidos en este estudio se encuentran en un intervalo de 6.54 - 7.77, considerados el primero moderadamente ácido y el segundo medianamente alcalino de acuerdo con la (NOM-021-RECNAT-2000); es importante ya que el pH es uno de los parámetros empleados para definir la movilidad del catión, su determinación es primordial, dado que afecta la solubilidad y disponibilidad de nutrientes y metales pesados (Hernández, 2009), el pH también interviene en varios procesos biológicos, como el crecimiento vegetal (Jiménez, 2004).

De acuerdo a (Kabata- Pendias & Pendias, 2000; Garcia & Dorronsoro, 2005), las fracciones más móviles de iones ocurren en los rangos menores de pH. Aunque la mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido como en el caso del suelo tratamiento de calabaza (6.54) moderadamente ácido (NOM-021-RECNAT-2000), López & Grau, (2005). Mencionan que en medios alcalinos pueden pasar nuevamente a la solución como hidroxicomplejos como pudiera presentarse en el suelo testigo calabaza (7.77) moderadamente alcalino (NOM-021-RECNAT-2000).

Mateo, (2005), menciona que *Cucurbita pepo* L. puede desarrollarse en suelos con pH 6-8.2 suelos moderadamente ácidos y moderadamente alcalinos (NOM-021-RECNAT-2000), en cuanto *Pisum sativum* L. menciona el mismo autor que está dentro del rango óptimo para un buen desarrollo en pH (6 a 7) neutros (NOM-021-RECNAT-2000); el pH al no presentar variaciones desfavorables para el desarrollo de las plantas en este estudio, no reduce la solubilidad de los nutrimentos y por consiguiente su disponibilidad para la mismas (Villegas, Acosta, Alia, Lopez & Andrade, 2007).

La textura de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 fue franco-arenoso para el testigo de calabaza y testigo de chícharo y para los tratamientos de calabaza y de chícharo la textura fue franca arcillosa arenosa, en la cual se presenta en su mayoría arena y cuenta con limo y arcilla; Fersini, (1978) menciona que *Cucurbita*

pepo L. se adapta a cualquier tipo de textura y *Pisum sativum* L. se adapta a suelos desde los arenosos hasta los arcillosos.

La concentración de materia orgánica de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 en testigo de calabaza fue de 5.83 % y en tratamiento de chícharo de 5.92% consideradas como altas y para el tratamiento de calabaza fue 3.41% y en testigo de chícharo de 1.79% como media; los valores más altos de materia orgánica promovieron que el Nitrógeno se encontrara también en concentraciones altas en testigo de calabaza (0.29 %) y en el tratamiento de chícharo (0.30%) por que la materia orgánica es la fuente más importante de minerales esenciales para la planta, ya que estos son retenidos como coloides orgánicos e inorgánicos y de esta manera son disponibles para los sistemas biológicos (Lugo et al., 2006).

Los datos obtenidos muestran efectos despreciables de salinidad (NOM-021-RECNAT-2000), en los suelos de los testigos tanto de *Cucurbita pepo* L. (0.45 mmhos) como de *Pisum sativum* L. (0.38 mmhos) (cuadro 1); los tratamientos de *Cucurbita pepo* L. (1.66 mmhos) y de *Pisum sativum* L. (1.35 mmhos) (cuadro 1); son muy ligeramente salinos (NOM-021-RECNAT-2000), tanto *Cucurbita pepo* L. como *Pisum sativum* L. Soportan la salinidad (Mateo, 2005). La conductividad eléctrica, mide la facilidad con la que un medio acuoso transmite la electricidad y puede relacionarse directamente con la concentración de sales disueltas presentes en el suelo (Villegas et al., 2007).

La densidad aparente se encuentra entre (0.85 y 1.9 g/cc); (Ríos, 1985) indica que los suelos cultivados de textura migajosa tiene una densidad aparente de 1.3 g/cc. En esta categoría se encuentran los valores de suelo tratamiento de calabaza y suelo tratamiento de chícharo (0.86 g/cm³) (Cuadro 1), así como los valores de suelo testigo de chícharo (1.14 g/cm³) y suelo testigo de calabaza (1.21 g/cm³); el suelo, como todo cuerpo poroso, tiene dos densidades: la real (densidad media de partículas sólidas y la aparente, que constituye un criterio útil para evaluar la

profundidad a la que penetran las raíces y la facilidad de circulación del agua y aire en la zona radicular (Ríos, 1985; Hernández, 2009).

La densidad real de suelo tratamiento chícharo (1.90 g/cm^3), suelo testigo de calabaza (2.01 g/cm^3), suelo tratamiento de calabaza (2.36 g/cm^3) y suelo testigo de chícharo (3.17 g/cm^3) (Cuadro 1), cuentan con valores que se encuentra por debajo y por arriba del intervalo de él que presentan la mayoría de los suelos (2.60 y 2.75 g/cc); (Ríos, 1985), debido a la materia orgánica ya que esta tiene baja DR (1.2 - 1.5 g/cm^3) y provoca una disminución de la DR del suelo, dependiendo de la proporción en la que se encuentre (Ríos, 1985),

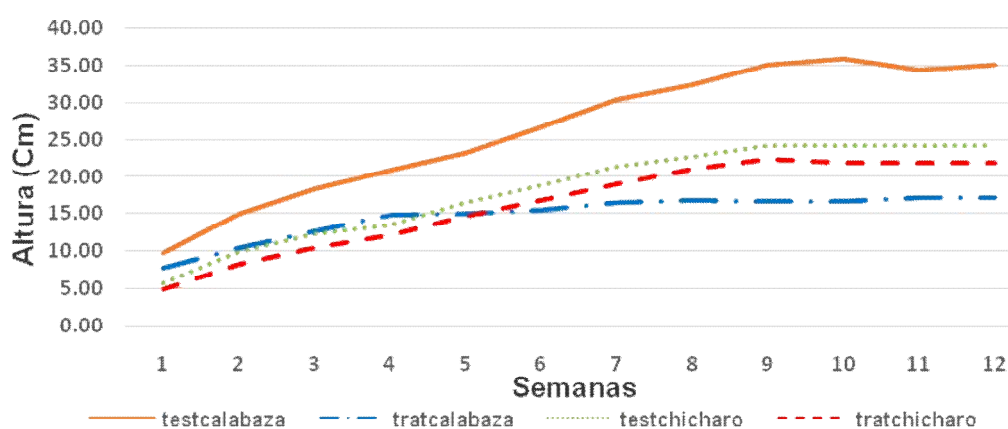
La cantidad de fósforo en suelo testigo de calabaza fue (19 mg kg^{-1}) y suelo testigo de chícharo (21.6 mg kg^{-1}) (cuadro 1) se determinaron como altos, de acuerdo a la (NOM-021-RECNAT-2000), en suelo tratamiento calabaza (18.67 mg kg^{-1}) y suelo de tratamiento chícharo (16.44 mg kg^{-1}) (cuadro 1) se determinó un valor medio según la (NOM-021-RECNAT-2000).

La capacidad de intercambio catiónico CIC es la propiedad más importante del suelo y permite conocer la cantidad de cationes que pueden ser retenidos y liberados de la superficie del coloide del suelo hacia el medio circundante, de donde la planta aprovecha dichos elementos para su nutrición (Fassbender, 1978; Bohn, Mcneal & O'Connor, 1993); la capacidad de intercambio catiónico CIC es la suma de todos los cationes intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , Al^{3+}) que el suelo puede absorber a pH determinados (Hernández, 2009).

Brady & Weil, (2008), menciona que cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo de fijar metales; se observa la cantidad de Ca (16.87 - $98.19 \text{ Cmol (+)kg}^{-1}$) (cuadro 1) es alta (NOM-021-RECNAT-2000) en todos los tratamientos, de Mg (1.93 - $7.97 \text{ Cmol (+) kg}^{-1}$) (cuadro 1) y K (1.30 - $1.83 \text{ Cmol (+) kg}^{-1}$) (cuadro 1) se registraron valores altos (NOM-021-RECNAT-2000). Para Na (0.81 - $1.20 \text{ Cmol (+) kg}^{-1}$) (cuadro 1). La mayoría de los metales se

comportan como cationes y son adsorbidos en materiales con cargas negativas, siendo este el principal mecanismo de retención de metales como Cd, Pb y Zn (Hernández, 2009).

9.2 Crecimiento de las especies Vegetales



Gráfica 1. Promedio del crecimiento los ejemplares de *Cucurbita pepo* L. y *Pisum sativum* L.

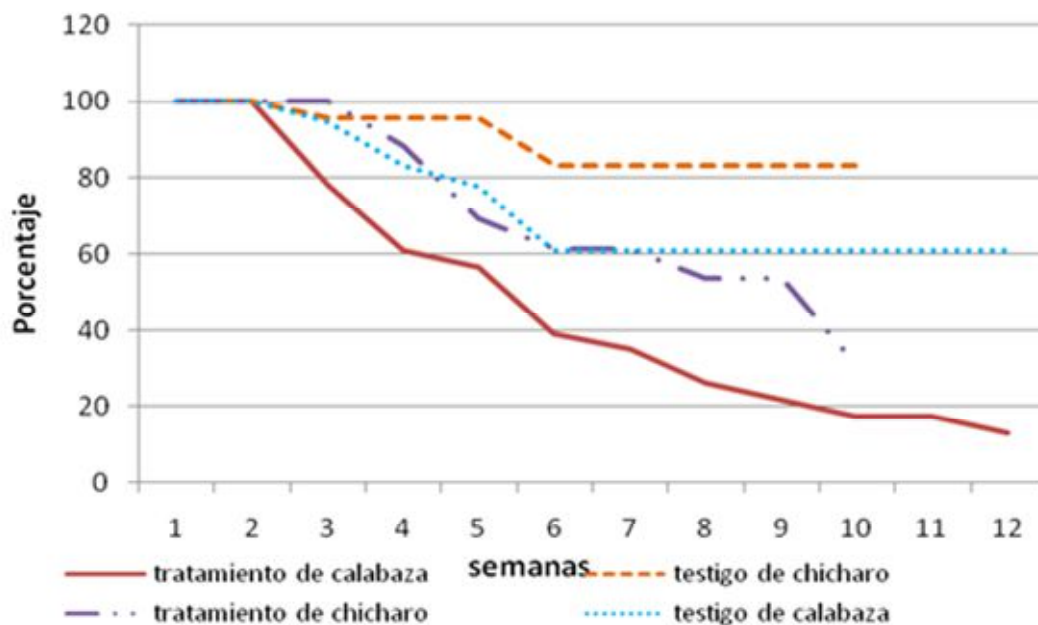
La altura a las doce semanas para el testigo de chícharo fue 24.28 cm y del tratamiento de chícharo 22.37 cm (Gráfica 1); el testigo de calabaza llegó a una altura de 35.85 cm y el tratamiento de calabaza obtuvo una altura de 18.98 cm, se encontraron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a Fisher con un 95% de confianza (Anexo) ya que el crecimiento de las plantas se inhibió por su exposición a suelo contaminado con metales pesados (Lozano-Rodríguez, Hernández, Bonay & Carpena, 1997).

Como lo mencionan Solís et al., (2012) el Plomo aplicado al suelo con plantas de *Cucurbita pepo* L. (calabaza), redujeron su altura conforme se incrementa la concentración del metal (Figura 10).



Figura 10. Crecimiento de calabaza (*Cucurbita pepo* L.)

9.3 Supervivencia de las especies vegetales



Gráfica 2. Supervivencia de *Cucurbita pepo* L. y *Pisum sativum* L.

En cuanto a la supervivencia (Gráfica 2) semanal obtenida al terminó de las doce semanas, se presenta diferencias ya que en el testigo de chícharo se obtuvo una supervivencia de 83.33% siendo la más alta y el tratamiento de chícharo tuvo 30.76%, el testigo de calabaza presento 61.11% y en tratamiento de calabaza se obtuvo 13.04% siendo la supervivencia más baja de todos los tratamientos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a Fisher con un 95% de confianza (Anexo).

La clorosis foliar (Figura 11) es uno de los efectos observados por toxicidad de Cd y Pb que muestran el daño en la fotosíntesis la cual podría ser la responsable de una reducción global en el crecimiento y supervivencia (Chugh & Sawhney, 1999).



Figura 11. Presencia de clorosis en las hojas:
a) calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y
b) chícharo (*Pisum sativum* L.)

9.4 Concentración de metales pesados Cd y Pb en suelo.

La concentración de metales que quedaron retenidos en el suelo (Cuadro 2) de los tratamientos de *Cucurbita pepo* L. y *Pisum sativum* L. están dentro del rango normal para Cd (0.01-2.0mg/Kg) y para el Pb (2-300mg/Kg) de acuerdo a Bowen, (1979); estos resultados están relacionados con el pH ya que este influye en la movilidad de los metales (Bigham, Schwertmann & Pfab, 1996), la mayoría de estos tienden a estar más disponibles a pH ácido (Kabata- Pendias & Pendias, 2000; Garcia & Dorronsoro, 2005), como se observa en el caso de los tratamientos tanto de calabaza como de chícharo los cuales manejan un pH de (6.54 y 6.73) respectivamente; para el caso del Cd el suelo de tratamiento de calabaza y el suelo de tratamiento de chícharo presentaron las concentraciones más altas (2.1 mg/Kg).

Cuadro 2. Concentración de metales pesados en suelo.

Muestra	Cd mg/Kg	Pb mg/Kg
Testigo calabaza	1.4	22.2
Tratamiento calabaza	2.1	54.7
Testigo chícharo	2.0	21.0
Tratamiento chícharo	2.1	25.8
Rango normal en suelo (mg/ kg) ¹	0.01-2.0	2-300
Concentración crítica totales en suelo (mg/ kg) ²	3-8	100-400

¹Los datos de rango normales en suelo proceden de Bowen, H.J.M. Environmental Chemistry of the Elements. Academia Pres. London (1979).

²Los datos de Concentración crítica total en suelo proceden de Kabata-Pendias, A. and Pendia H.Trance, Elements in Soil and Plants. CR prensa, Boca Ratón, Florida (1984).

9.5 Concentración de metales pesados Pb y Cd en planta

Para el Pb (Cuadro 3), tanto en el testigo como en el tratamiento de chícharo se determinaron valores normales ($0.2-20\text{mg.kg}^{-1}$) de acuerdo a Bowen, (1979) excepto en la raíz del tratamiento de chícharo fue (50mg.kg^{-1}); a diferencia de la calabaza, que los testigos presentan valores normales, y los tratamiento presentaron valores críticos ($30-300\text{mg.kg}^{-1}$) de acuerdo a Kabata-Pendias & Pendias, (1984) , en raíz del tratamiento de calabaza se obtuvo (155.0mg.Kg^{-1}) y en el tallo del tratamiento de calabaza se obtuvo (38.8mg.Kg^{-1}) y en la hoja del tratamiento de calabaza se obtuvo (96mg.Kg^{-1}). De acuerdo a Kabata-Pendias & Pendias, (1984) y Alloway, (1990), el Pb no es fácilmente soluble en el suelo, es absorbido principalmente por los pelos de la raíz y es almacenado en las paredes celulares de la raíz en mayor proporción que en otros órganos de la planta. La raíz de la calabaza presentó una concentración mayor. Los valores críticos del Pb pueden dar como resultado clorosis, como el que se presentó en las hojas de los tratamientos de calabaza y de chícharo (Figura 12 y 13), ya que reduce la producción de clorofila (Franco-Hernández, Vásquez, Patiño & Dendooven, 2010; Smith, Christophersen, Pope & Andrew, 2010).



Figura 12. Clorosis en hoja de calabaza



Figura 13. Clorosis en hoja de chícharo

El Cd tanto en calabaza como en chícharo no se detectó, excepto en la hoja del tratamiento de calabaza ($0.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y en el tallo del tratamiento de chícharo ($0.8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), ambos en concentraciones normales ($0.1\text{-}2.4\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) de acuerdo a Bowen, (1979), el Cd al acumularse en las hojas provoca que se marchiten y disminuya la longitud de su raíz (Intawongse & Dean, 2006).

Cuadro 3. Concentración de metales pesados en diferentes órganos de raíz, tallo y hoja de *Cucurbita pepo* L. (calabaza) y *Pisum sativum* L. (chícharo).

Muestra Planta	Pb mg.kg ⁻¹	Cd mg.kg ⁻¹
Testigo calabaza hoja	9	ND
Tratamiento calabaza hoja	96*	0.3
Testigo calabaza tallo	ND	ND
Tratamiento calabaza tallo	38.8*	ND
Testigo calabaza raíz	ND	ND
Tratamiento calabaza raíz	155.0*	ND
Testigo chícharo hoja	ND	ND
Tratamiento chícharo hoja	10	ND
Testigo chícharo tallo	ND	ND
Tratamiento chícharo tallo	24.2*	0.8
Testigo chícharo raíz	ND	ND
Tratamiento chícharo raíz	50.0*	ND
Rango normal en planta(mg.kg ⁻¹) ¹	0.2-20	0.1-2.4
Concentración crítica totales en planta (mg.kg ⁻¹) ²	30-300*	5-30

¹Los datos de rango normales en planta proceden de Bowen, H.J.M. Environmental Chemistry of the Elements. Academia Pres. London (1979).

²Concentración crítica total en planta proceden de Kabata-Pendias, A. and Pendias H. Trance, Elements in Soil and Plants. CR prensa, Boca Ratón, Florida (1984).
ND: No determinado

9.6 Factor de Translocación (FT) e Índice de Tolerancia (IT).

Para saber si existe un transporte de metal de la raíz a la parte aérea (Cuadro 4) se utilizó el Factor de Translocación (FT), si los valores son menores a 1 se considera que la planta es acumuladora, pero si es mayor a 1 es hiperacumuladora (Shu et al., 2002; Sung, Lee & Lee, 2011), *Cucurbita pepo* L. y *Pisum sativum* L. son acumuladora de Plomo (0.3) y (0.5) respectivamente, también ambas especies son tolerantes al plomo (Pb), de acuerdo al índice de tolerancia (Zhang, Huang, He & Sheng, 2012), las plantas que son acumuladora o hiperacumuladoras son más eficaces en la eliminación de metales en el suelo.

Aunque los metales pesados son tóxicos para las plantas en ciertas cantidades, algunas son capaces de absorber y acumularlos gracias a sus mecanismos de adaptación que presentan. En cuanto a las especies tolerantes, Salisbury & Ross, (1992) afirman que esta característica se debe a que hay agentes quelantes específicos (por ejemplo en las paredes celulares de la raíz) que forman puentes complejos con los iones metálicos e impiden que estos reaccionen. La secreción de estos metales a las vacuolas también podría contribuir a atenuar sus efectos tóxicos, ya que pueden ser usadas para eliminar transferir, estabilizar y/o degradar los contaminantes del suelo (Khan, Kuek, Chaudhry, Khoo & Hayes, 2000; Guerrero, Gómez, Moral, Mataix- Solera, Mataix-Beneyto & Hernández, 2001; Zhang et al., 2012).

Cuadro 4. Factor de Translocación e índice de Tolerancia de metales en los tratamientos de *Cucurbita pepo* L. (calabaza) y *Pisum sativum* L. (chícharo).

	Factor de translocación.	Factor de translocación.
Metal	<i>Cucurbita pepo</i> L.	<i>Pisum sativum</i> L.
Pb	0.3	0.5
Índice de Tolerancia	128.42	124.12

Nota: FT con valores menores a 1 acumuladora. FT con valores mayor a 1 hiperacumuladoras,*
IT= Índice de Tolerancia, IT mayor a 100=Tolerante.

10. CONCLUSIONES

La concentración de cadmio en la hoja del tratamiento de *Cucurbita pepo* L. (0.3 mg.Kg^{-1}) y el tallo del tratamiento de *Pisum sativum* L. (0.8 mg.Kg^{-1}) están dentro de los valores normales de acuerdo a Bowen, (1979).

En los tratamientos de *Cucurbita pepo* L. y *Pisum sativum* L. se detectó plomo en concentraciones críticas de acuerdo a Kabata-Pendias, and Pendia, (1984), en hoja de calabaza (96 mg/kg), tallo (38.8 mg/kg) y raíz (155 mg/kg); en raíz de chícharo (50 mg/kg) y tallo (24.2 mg/kg) ligeramente por encima de la concentración normal); la raíz en ambos tratamientos presentó la concentración mayor.

Los testigos de chícharo y calabaza fueron los que obtuvieron una mayor altura, 1.91 y 16.87 cm, respectivamente.

Los testigos de chícharo y calabaza fueron los que tuvieron un mayor porcentaje de supervivencia (52.57% y 48.07%, respectivamente).

La calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y el chícharo (*Pisum sativum* L.) son plantas tolerantes al Pb (128.42 y 124.12 de acuerdo al Índice de tolerancia).

Las especies *Pisum sativum* L. y *Cucurbita pepo* L. son acumuladoras de Pb de acuerdo al Factor de translocación, por lo que presentan una capacidad fitoextractora limitada ya que no son hiperacumuladoras.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades ATSDR, 2005. Reseña Toxicológica del Níquel. Consultado 4 de julio de 2013. Disponible: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts15.pdf.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades ATSDR, 2007. Reseña Toxicológica del Plomo. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs13.html.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades ATSDR, 2008. Reseña Toxicológica del Cadmio. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts5.pdf.
- Akinci, E., Akinci, S. & Yilmaz, K., 2010. Response of tomato (*Solanum L* y *copersicum L.*) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content. *African Journal of Agricultural Research* 5 (6), 416-423.
- Almanza M. J, P., Rojas S.H, F., Borda G. G. Del C., Galindo A. A, R. & Galindo A. D, R., 2009. Aplicación foliar de Níquel en *Cucurbita ficifolia* Bouché para producción de ureasa (EC 3.5.1.5) cristalina. *Agronomía Colombiana*, Vol. 27, Núm. 1
- Alloway, B. J. 1990. Heavy metals in soil. UAS. John Wiley & Sons, Ins. 189.
- Becerril, J. M., Barrutia, O., García Plazaola, J.I., Hernández, A., Olano, J.M & Garbisu, C. 2007. Especies nativas de suelos contaminados por metales: Aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Ecosistemas*, 2007/2.
- Bigham J. M., Schwertmann U., & Pfab G. 1996. Influence of pH on mineral speciation in a bioreactor simulating acid mine drainage. *Appl. Geochim.* 11 in press.
- Bohn, H. L., B. L. Mcneal & G. O'Connor. 1993. Química del suelo. Ed. Limusa. 175.
- Bonomelli, C. Bonilla, C. & Valenzuela, A., 2003. Efecto de la fertilización fosforada sobre el contenido de Cadmio en cuatro suelos de Chile. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38, 1179-1186.
- Bowen H.J.M, 1979. Environmental chemistry of the Elements Academic. Press London.
- Bowen, H.J.M. 1979. Environmental chemistry of the Elements, Press, New York, 333.

- Bradshaw, A.D. & Mc Neilly 1985. *Evolución y Contaminación*. Ed. Omega. 82.
- Brady, N.C. & Weil, R.R. 2008. *The nature and properties of soils*, 14th Edición. Prentice Hall, Upper Saddle River, New York.
- Carpena, R. & Bernal, M., 2007. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Ecosistemas* 16 (2), 1-3.
- Castaldi P., Melis P., Silveti M., Deiana P. & Garau, G. 2009. Influence of Pea and Wheat Growth on Pb, Cd, and Zn Mobility and Soil Biological Status in a Polluted Amended Soil. *Geoderma* 151 (2009) 241–248
- Cervantes, C. & Moreno Sánchez, R. 1999. *Contaminación ambiental por metales pesados: impacto en seres vivos*. AGT Editor, S.A. 1º edición: 1-157.
- Cherian, S. & Oliveira, M. 2005. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science & Technology*. 39: 9377-9390.
- Chien, S. H., Carmona, G., Prochnow, L. I. & Austin, E. R., 2003. Cadmium availability from granulated and bulk-blended phosphate-potassium fertilizers. *J. Environ. Qual.* 32: 1911-1914.
- Cho, C., Yavuz-Corapcioglu, M., Park, S. & Sung, K. 2008. Effects of Grasses on the Fate of VOCs in Contaminated Soil and Air. *Water, Air, & Soil Pollution*. 187:243-250.
- Chugh L. K. & Sawhney S. K, 1999. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of Cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37:297–303.
- Codling, E. E. & Ritchie, J. C. 2005. Eastern gamagrass uptake of lead and arsenic from lead arsenate contaminated soil amended with lime and phosphorus. *Soil Sci.* 170 (6): 413- 423.
- Consejo De Recursos Minerales COREMI. 1992. Monografía geológico-minera del Estado de Hidalgo. Consejo de Recursos Minerales. Pachuca, Hgo. México.58-61.
- Corinne P. Rooney, Fang-Jie Zhao, Steve P. McGrath. 2006. Phytotoxicity of nickel in a range of European soils: Influence of soil properties, Ni solubility and speciation, *Environmental Pollution* 145: 596-605.
- De Acevedo F., 2003. *Toxicología de Mercurio*. Rima. Sao Paulo, Brasil. 292.

- Delgadillo-López, A.E., González-Ramírez, C.A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J.R., & Acevedo-Sandoval, O., 2011. Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14: 597-612.
- Eapen, S., Singh, S & D'Souza, S. F. 2007. Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. *Biotechnology Advances*. 25:442-451
- Environmental Protection Agency (EPA) United States. 1999. Biosolids Generation, use, and Disposal in the United States. Municipal and Industrial Solid Waste. División Office of Solid Waste. EPA 530-R-99-009. 74.
- Etchevers B., J., D., 2001. Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas del laboratorio de fertilidad de suelos. IRENAT. Colegio de Posgraduados. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.
- Fassbender W. H. 1978. Química de Suelos con Énfasis en Suelos de América Latina. IICA – San José – Costa Rica. 119-167.
- Fellet, G., Marchiol, L., Perosa, D., & Zerbi, G., 2007. The application of phytoremediation technology in a soil contaminated by pyrite cinders. *Ecol. Eng.* 31, 207–214.
- Fersini Antonio. 1978. Horticultura plactica Ed. Diana. México. 233,359.
- Franco-Hernández M.O., Vásquez-Murrieta M.S., Patiño Siciliano A., & Dendooven L. 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Biores. Techn.* 101, 3864-3869.
- Garbisu, C. & Alkorta, I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology* 77 (3), 229–236.
- García, I. & Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por metales pesados. En: *Tecnología de Suelos*. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafología.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>.
- Guerrero, C., Gómez, I., Moral, R., Mataix-Solera, J., Mataix-Beneyto, J. & Hernández T. 2001. Reclamation of a burned forest soil with municipal waste compost: macronutrient dynamic and improved vegetation cover recovery. *Bioresource Technology*, 76,221-227.
- Guitart R., 2005. *Revista Española de Salud Pública* V.79 No.6.Madrid Nov.- ISSN 1135-5727.

- Gulson, B. 1996. Tooth Analyses of Sources and Intensity of Lead Exposure in Children. *Environmental health perspectives*. 104 (3), 306-312.
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerant. *Journal of Experimental Botany*, 53 (366). 1-11.
- Hattab, S. Dridi, B. Chouba, L. Kheder, B. Mohamed, B. 2009. Photosynthesis and Growth Responses of Pea *Pisum sativum* L. Under Heavy Metals Stress. *Journal of Environmental Sciences* 21(2009) 1552–1556.
- Henson, M. C. & Chedrese, P J., 2004. Endocrine Disruption by Cadmium a Common Environmental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction. *Exp. Biol. Med.* 229,383-392.
- Hernández Z. M. 2009. Estudios de la acumulación de Plomo y Cadmio por *Asphodelus fistulosus* L. y *Brassica juncea* L. para fitorremediar jales. Tesis para obtener el grado de maestra en biotecnología, Ciudad de México. UNAM. 75.
- Intawongse, M. & Dean. J. 2006. Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soil and their bioavailability in the human gastrointestinal tract; *Food Additives and Contaminants*, 23: 36–48
- Jadia, C. & Fulekar, M. 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African Journal of Biotechnology* 8 (6), 921-928.
- Jiménez, I. 2004. Evaluación de la Concentración de Metales Pesados en Suelo y Hortalizas de la zona Chinampera de Xochimilco. FES Zaragoza. Tesis de licenciatura UNAM.
- Kabata-Pendias, A. & H. Pendias. 1984. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press, Boca Raton, Fla, 336 pp.
- Kabata-Pendias, A & H. Pendias, 2000. *Trace elements in soils and plants*. Third Edition. CRC. Press, in Boca Ratón. Florida, USA. 365, 412,413.
- Kamal, M., Ghaly, A. E., Mahmoud, N. & Cote, R. 2004. Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environment International*. 29:1029-1039.
- Kelley, C., Gaither, K. K., Baca-Spry, A. & Cruickshank, B. J. 2000. Incorporation of phytoremediation strategies into the introductory chemistry laboratory. *Chem Educator*. 5:140-143.
- Khan, A. G. Kuek, C. Chaudhry, T, M., Khoo, C.S. & Hayes, W. J. 2000. Role of plants, Mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation *Chemosphere*, 41, 197-207.

- Kidd, P.C., Becerra Castro, C. García Lestón, M. & Monterroso, C. 2007. Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Ecosistemas* 16 (2): 26-43.
- Lasat, M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. Published in *J. Environ. Qual.* 31, 109–120.
- López, M. & Grau J.M. 2005. Metales pesados, Materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de los pastos de la España peninsular. II Resultados por Provincias. Ministerio de Educación y Ciencia e Instituto Nacional de Tecnología Agraria y Alimentaria.
- Lozano-Rodriguez E, Hernandez LE, Bonay P. & Carpena-Rui R.O, 1997. Distribution of cadmium in root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. *Journal of Experimental Botany*, 306: 123–128.
- Lu, Mang. Zhang, Zhong-Zhi. Su, Xiao-Li. Xu, Yu-Xin & Wu. Xue-Jiao. 2013. Effect of copper on in vivo fate of BDE-209 in pumpkin. *Journal of Hazardous Materials*. 262(2013)311-317.
- Lugo, J., Chávez, M., Evangelista, B., Vaca, R., Del Águila, P., & Hernández, D. 2006. Metales pesados totales y disponibles en suelos adicionados con lodos residuales después de 12 meses de aplicación. Facultad de Ciencias UAEM. Toluca, México.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J. & Lombi, E. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil*. 232: 207-214.
- Madejón, P. Murillo. J. M., Marón, T. Cabrera, F. & López, R. 2002. Bioacumulación of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcólla mine spill (SW Spain). *The Science of the total Environment*, 290,105-120.
- Manousaki, E., Kadukova, J., Papadantonakis, N., & Kalogerakis, N., 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix myrtilloides* growing on contaminated non-saline and saline soils. *Environmental Research*, 106,326-332.
- Maruthi, BBS, Dile, S.V., Han, FX. & Monts, DL. Su Y., 2005. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). *Env. Exp. Bot.* 54, 131-14.
- Mateo, J. M. 2005. Prontuario de agricultura. Cultivos agrícolas. Mundi Prensa. España. 941.

- Miretzky, P., Saralegui, A. & Fernández-Cirelli, A. 2004. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere*. 57: 997-1005.
- Miteva, E.; Maneva, S.; Hristova, D. & Bojinova, P. 2001. Heavy metal accumulation in virus-infected tomatoes. *J. Phytopatol.* 149: 179-184.
- Moral, R., Palacios, G., Gómez, I., Navarro, J. & Mataix, J. 1994. Distribution and accumulation of heavy metals (Cd, Ni and Cr) in tomato plant. *Fresenius Environmental Bulletin*, 3:395-399.
- Morrow H. 1990. Cadmium (Cd), *Metals Handbook*, 10th Edition, Volume 2, ASM. International, Metals Park, Ohio.
- Mortvedt, J. J. 1996. *Micronutrientes en la agricultura*. AGT. Editor, S. A. México.
- Narwal, R.P., Sing, B.R. & Selbu, B. 1999. Association of Cadmium, Zinc, copper and Nickel with components in naturally heavy metal rich soils studied by parallel and sequential extraction. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 30, 1209- 1230.
- Navarro-Aviñó, J.P., Aguilar Alonso, I., & López-Moya, J.R., 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 16 (2): 10-25.
- Nayar, N. M. & T. A. More. 1998. *Cucurbits*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire, EUA.
- Nayek, S., Gupta, S. & Saha, R. 2010. Metal accumulation and its effect in relation to biochemical response of vegetables irrigated with metal contaminated water and wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 178, 588-595.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Edición electrónica. México.
- Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M. & Villar, S. 2007. Metales pesados. La contaminación de los suelos. Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Universidad de Alcalá. España, 12-14.
- Padmavathamma, P.K., & Li, L.Y., 2007. Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. *Water Air Soil Pollut.* 184, 105–126.
- Prieto, J., González, C., Román, A. & Prieto, F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10 (1), 29-44.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. UNEP. 2008-2010.
Fuente <http://www.unep.org/spanish>.

Radojevic, M. & Bashkin, V, N. 1999. Practical environmental analysis The Royal Society of Chemistry. U.K. 466.

Ratto, S. & Mizuno, I. 1991. "Respuesta de maíz al agregado de Zinc en ensayo de invernáculo ". XIII Congreso Argentino de Ciencia del Suelo Bariloche.

Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Borhidi, A., & Berazain, R. 1999. Nickel hyperaccumulation in the serpentine flora of Cuba. *Annals of Botany*. 83: 29-38.

Reeves, R. D. 2006. Hyperaccumulation of trace elements by plants. En: *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*. Springer Netherlands (ed). ISBN 978-1-4020-4686-5. 25-52.

Reichenauer, T.G. & Germida, J. J., 2008. Phytoremediation of organic contaminants in soil and groundwater. *ChemSusChem*. 1: 708-717.

Ríos, R. 1985. Manual de prácticas del módulo de edafología. E.N.E.P. Zaragoza. UNAM.

Robinson, R. W. & Decker-Walkers D. S. 1997. Cucurbits. *Crop Production Science in Horticulture*. Series Editors: Jeff Atherton y Alan Rees, *Journal of Horticultural Science*. 226.

Rodríguez-Ortíz, J.C., Valdez-Cepeda, R.D., Lara-Mireles, J.L., Rodríguez-Fuentes, H., Vázquez- Alvarado, R.E., Magallanes-Quintanar, R., & García-Hernández, J.L., 2006. "Soil Nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cadmium and Lead by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)". *Bioremediation Journal* 10(3): 105–114.

Rodríguez-Serrano. M., Martínez de la Casa, N., Romero-Puertas, M. C., Del Río, L. A. & Sandillo, L.M. 2008. "Toxicidad Del Cadmio en Plantas." *Ecosistema* 17: 139-146.

Salazar, R. & Reyes, R, 2000. Efectos tóxicos y mecanismos de tolerancia al Cadmio en los seres vivos. *Universidad, Ciencia y Tecnología*. 13:17-22.

Salisbury, F & Ross, C. 1992. *Fisiología vegetal* United States: Publishing California.

Sánchez, N. Rivero, C., & Martínez, Y. 2011. "Cadmio disponible en dos suelos de Venezuela efecto del Fósforo." *Revista Ingeniería UC* 18: 7-14.

Selim, H.M. & Kingery, W.L. 2003. *Geochemical and Hydrological Reactivity of Heavy Metals in Soils*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL 360.

- Seoáñez, & Calvo M, 1999. Ingeniería del Medio Ambiente Aplicada al Medio Natural Continental Mundi-Prensa, México. 60, 181 y 290.
- Sierra, V., 2006. Fitorremediación de un suelo contaminado con Plomo por actividad industrial. Tesis (Ingeniero Agrícola y Ambiental). Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" División de Ingeniería.
- Singh O.V. & Jain, R.K. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination from Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61: 405-412.
- Solís, M., Sahagún, C., Villanueva, V., Colinas, L. & García, M., 2012. Distribución de biomasa y acumulación de Plomo en Calabacita (*Cucurbita pepo* L.) cultivada en suelo contaminado. *Revista. Chapingo Serie. Horticultura Vol.18 no.2 Chapingo may/ago*, 2012.
- Shu, W., Ye, Z., Lan, C., Zhang, Z., & Wong, M. 2002. Lead, Zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodondactylon*. *Environ. Pollut. J.* 120 (2), 445–453.
- Spain, A. 2003. Implications of microbial heavy metals tolerance in the environment. *Reviews in Undergraduate Research*, 2, 1-6.
- Smith E.S., Christophersen M.H., Pope S & Andrew S.F. 2010. Arsenic uptake and toxicity in plants: integrating mycorrhizal influences. *Plant Soil*. 327, 1-21. Souza F.J.,
- SUN, Y., Zhou, Q. & Diao, C.H. 2008. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Bioresource Technology* 99 1103–1110.
- Sung, M., Lee, C. & Lee, S., 2011. Combined mild soil washing and compostassisted phytoremediation in treatment of silt loams contaminated with copper, Nickel, and chromium. *Journal of Hazardous Materials* 190, 744-754.
- Turgut, C., Pepe, M. & Cutright, T. 2005. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. *Chemosphere* 58, 1087–1095.
- Vardanyan, L. G. & Ingole, B. S., 2006. Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *Environment International*. 32: 208-218.

- Villegas, O., Acosta, C., Alia, I., Lopez, V., & Andrade, M., 2007. Influencia de la presión osmótica de la solución nutritiva en la absorción de macronutrientes. *Investigación Agropecuaria*, 4, 25-30.
- Wang, C., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., Zhang, W., Li, W., & Lin, P. 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere* 75, 1468-1476.
- Watanabe, M. E. 1997. Phytoremediation on the brink of commercialization. *Environmental Science & Technology*. 31: 182-186.
- Whitaker, T. W. & G. N. Davis G. N. 1962. Cucurbits; Botany, Cultivation and utilization. Leonard Hill, New York. 259.
- Whiting, S.M., Reeves, R.D., Richards, D., Johnson, M.S., Cooke, J:A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J.A.C, Angle, J.S., Chaney, R.L., Ginocchio, R., Jaffré, T., Johns, R., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Schat, H., Zhao, F.J. & Baker, A.J.M. 2004. Research Priorities for Conservation of Metallophyte Biodiversity and their Potencial for Restoration and Site Remediation. *Restoration Ecology* 12(1), 101-116.
- Wilkins, D.A. 1957. A technique for the measurement of lead tolerance in plants. *Nature* 180, 37-38.
- Wilkins, D.A., 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of rootgrowth. *New Phytologist* 80: 623–633.
- Williamson, N.A., Johnson, M.S. & Bradshaw, A.D. 1982. Mine Wastes Reclamation. Mining Journal Books. London. 103.
- Wong, M. H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50: 775-780.
- Yang, X. E., Long, X. X., Ye, H. B., He, Z. L., Calvert, D. V. & Stoffella, P. J. 2004. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii*Hance). *Plant and Soil*. 259: 181-189.
- Zapata, Cruz, A. & Galván, V., M., A., 2004. Manual básico de absorción atómica para el manejo del equipo SPECTRA A200 marca Varian. Facultad de estudios superiores Zaragoza. UNAM. México.
- Zhang, X., Xia, H., Zhian, Li, Z., Zhuang, Ping., & Gao, B. 2010. Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology* 101, 2063–2066.

Zhang, W., Huang, Z., He, L. & Sheng, X. 2012. Assessment of bacterial communities and characterization of lead-resistant bacteria in the rhizosphere soils of metal-tolerant *Chenopodium ambrosioides* grown on lead-zinc mine tailing. *Chemosphere*, 87, 1171-1178.

12. ANEXO

ANOVA Simple - Col 2 por Col 1

Variable dependiente: Col_2 (Altura)

Factor: Col_1 (Muestras)

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 4

Pruebas de Múltiple Rangos para Col_2 por Col_1

Método: 95.0 porcentaje LSD

Col 1	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Tratamiento de calabaza	3	18.98	X
Tratamiento de chícharo	3	22.37	X
testigo de chícharo	3	24.28	X
testigo de calabaza	3	35.85	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Tratamiento de calabaza - Tratamiento de chícharo	*	-3.39	0
Tratamiento de calabaza - testigo de calabaza	*	-16.87	0
Tratamiento de calabaza - testigo de chícharo	*	-5.3	0
Tratamiento de chícharo - testigo de calabaza	*	-13.48	0
Tratamiento de chícharo - testigo de chícharo	*	-1.91	0
testigo de calabaza - testigo de chícharo	*	11.57	0

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Prueba de Kruskal-Wallis para Col 2 por Col 1

Col 1	Tamaño Muestra	Rango Promedio
Tratamiento de calabaza	3	2.0
Tratamiento de chícharo	3	5.0
testigo de calabaza	3	11.0
testigo de chícharo	3	8.0

Estadístico = 11.0 Valor-P = 0.0117254

El StatAdvisor

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis de que las medianas de Col_2 dentro de cada uno de los 4 niveles de Col_1 son iguales. Primero se combinan los datos de todos los niveles y se ordenan de menor a mayor. Luego se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada nivel. Puesto que el valor-P es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras, seleccione Gráfico de Caja y Bigotes, de la lista de Opciones Gráficas, y seleccione la opción de muesca

de mediana.

ANOVA Simple - Col 3 por Col 1

Variable dependiente: Col_3 (Supervivencia)

Factor: Col_1 (Muestras)

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 4

Pruebas de Múltiple Rangos para Col_3 por Col_1

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Col_1</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Tratamiento de calabaza	3	13.04	X
Tratamiento de chícharo	3	30.76	X
testigo de calabaza	3	61.11	X
testigo de chícharo	3	83.33	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Tratamiento de calabaza - Tratamiento de chícharo	*	-17.72	0
Tratamiento de calabaza - testigo de calabaza	*	-48.07	0
Tratamiento de calabaza - testigo de chícharo	*	-70.29	0
Tratamiento de chícharo - testigo de calabaza	*	-30.35	0
Tratamiento de chícharo - testigo de chícharo	*	-52.57	0
testigo de calabaza - testigo de chícharo	*	-22.22	0

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Prueba de Kruskal-Wallis para Col_3 por Col_1

<i>Col_1</i>	<i>Tamaño Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
Tratamiento de calabaza	3	2.0
Tratamiento de chícharo	3	5.0
testigo de calabaza	3	8.0
testigo de chícharo	3	11.0

Estadístico = 11.0 Valor-P = 0.0117254

El StatAdvisor

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis de que las medianas de Col_3 dentro de cada uno de los 4 niveles de Col_1 son iguales. Primero se combinan los datos de todos los niveles y se ordenan de menor a mayor. Luego se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada nivel. Puesto que el valor-P es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras, seleccione Gráfico de Caja y Bigotes, de la lista de Opciones Gráficas, y seleccione la opción de muestra de mediana.