



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Fitorremediación de plomo (Pb^{2+}) en agua por medio de una planta clonal,
Hydrocotyle bonariensis

T E S I S

que para optar por el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en el Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

p r e s e n t a:

Emigdio Curátame López Guel

Tutor principal:

Dr. Edgar Gerardo Mendoza Baldwin – II UNAM

Miembros del comité tutor:

Dr. Francisco Javier Flores Verdugo – ICMYL Mazatlán

Dra. María Luisa Martínez Vázquez – INECOL, AC

Dr. Pedro Ramírez García – FES Iztacala

Dr. Rodolfo Silva Casarín – II UNAM

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., Agosto 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Fitorremediación de plomo (Pb^{2+}) en agua por medio de una planta clonal, *Hydrocotyle bonariensis*

Índice temático

Introducción	10
Justificación	11
Hipótesis.....	11
Objetivos	12
General.....	12
Específicos	12
Organización del trabajo	12
Capítulo 1. Antecedentes.....	14
1.1. Elementos metálicos en las fases del suelo	14
1.1.1. Clasificación de los elementos metálicos.....	15
1.2. Elementos nutritivos para las plantas	18
1.3. Ciclos biogeoquímico de los elementos traza	20
1.3.1. Fuentes de los elementos traza	20
1.3.2. En ecosistemas agrícolas.....	20
1.3.3. Circulación estuarina de metales pesados.....	21
1.4. Propiedades del plomo, y su impacto ambiental y a la salud	23
1.4.1. Contaminación en el Golfo de México por plomo	24
1.5. Características generales de La Mancha	25
1.5.1. Importancia como sitio Ramsar	26
1.5.2. Riesgos ambientales en La Mancha	28
1.6. Fitorremediación.....	28
1.6.1. Ventajas y desventajas de la fitorremediación	29
1.6.2. Tipos de estrategias de fitorremediación	30
1.6.3. Índices de fitorremediación	32
1.6.4. Plantas de La Mancha con potencial capacidad fitorremediadora.....	33
1.6.5. Características <i>H. bonariensis</i> y las plantas clonales.....	35
1.6.6. Humedales construidos.....	38
Capítulo 2. Materiales y métodos	40
2.1. Elección de elementos de fitorremediación	40
2.1.1. Contaminante y condiciones de la fitorremediación	40
2.1.2. Planta fitorremediadora.....	40

2.2. Muestreo de las plantas	43
2.3. Crecimiento de plantas	44
2.3.1. Componentes de las incubadoras	44
2.3.2. Incubadora de aclimatación e incubadoras de propagación	45
2.3.3. Temperatura, pH y características de las plantas en las incubadoras	46
2.4. Solución nutritiva y riego	48
2.5. Acondicionamiento del sustrato (Agrolita)	50
2.6. Sistema fitorremediador	50
2.6.1. Módulo de fitorremediación	51
2.6.2. Reservorio y sistema de recirculación	53
2.6.3. Temperatura, pH y características de las plantas en el sistema fitorremediador	54
2.7. Modelación de componentes en fase acuosa	55
2.8. Montaje de blancos	55
2.9. Montaje de corridas de fitorremediación con <i>H. bonariensis</i>	56
2.10. Intensidad de luz	57
2.11. Plomo soluble (Pb^{2+})	58
2.11.1. Muestreo y análisis	58
2.11.2. Cálculo de contenido de Pb^{2+}	59
2.12. Plomo en matrices sólidas ($Pb(II)$) y contenido de humedad	60
2.12.1. Muestreo y análisis	60
2.12.2. Cálculo de datos en base seca e índices de fitorremediación	60
Capítulo 3. Resultados y discusión	62
3.1. Elección del sustrato para propagar <i>H. bonariensis</i>	62
3.2. Modelación del comportamiento del Pb^{2+} en la solución nutritiva	62
3.2.1. Modelación con presencia de fosfatos	62
3.2.2. Modelación sin presencia de fosfatos	64
3.2.3. Modelación con otros metales tóxicos	65
3.3. Pruebas con plomo sin presencia de plantas (Blancos)	67
3.4. Pruebas de fitorremediación de Pb^{2+} con <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	69
3.5. Comportamiento de Pb^{2+} soluble con respecto al tiempo	70
3.6. Homogeneidad del Pb^{2+} soluble en el sistema fitorremediador	71
3.7. Características de crecimiento de las plantas	72
3.8. Contenido de $Pb(II)$ en matrices vegetales y agrolita. Base húmeda	74

3.9. Contenido de Pb(II) en matrices vegetales y agrolita. Base seca	76
3.10. Balance de Pb(II).....	78
Capítulo 4. Discusión	82
Capítulo 5. Conclusiones	86
Capítulo 6. Bibliografía	94

Índice de tablas

Tabla 1. Contenido promedio de elementos no metálicos, metálicos y metaloides, y sus FMA.....	15
Tabla 2. Caracterización toxicológica de algunos metales que funcionan como nutrientes para las plantas.....	17
Tabla 3. Resumen de las funciones fisiológicas y los síntomas de la deficiencia de elementos metálicos y no metálicos en las plantas.....	19
Tabla 4. Principales problemáticas ambientales en el Golfo de México y la laguna de La Mancha.	24
Tabla 5. Plantas pertenecientes al listado florístico del sitio Ramsar de La Mancha y El Llano, con tolerancia a contaminantes.....	34
Tabla 6. Mediciones fisicoquímicas y de contenido de metales pesados en agua y sedimentos de La Mancha.....	41
Tabla 7. Promedios de temperatura y pH medidos en las incubadoras	47
Tabla 8. Composición química de la solución nutritiva hidropónica	48
Tabla 9. Concentraciones totales de componentes iónicos usados en el programa MINEQL.....	55
Tabla 10. Resultados de mediciones de intensidad de luz.....	57
Tabla 11. Datos de concentración de Pb^{2+} en la solución nutritiva con respecto al tiempo	68
Tabla 12. Homogeneidad de la concentración de Pb^{2+}	72
Tabla 13. Factores de fitorremediación	78
Tabla 14. M_{Pb^2} retenido en agrolita, rizoma y tallos con hoja	79

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo para la clasificación toxicológica de un metal catiónico.....	17
Figura 2. Mapa de localización de la laguna de La Mancha, Veracruz.....	26
Figura 3. Imagen de un genet de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	35
Figura 4. Mapa de distribución de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	36
Figura 5. Esquema de un sistema de humedal construido de flujo superficial horizontal.....	39
Figura 6. Esquema de un sistema de humedal construido de flujo sub-superficial vertical.....	39
Figura 7. Especies de plantas representativas del sitio Ramsar La Mancha con potencial fitorremediador de Pb.....	42
Figura 8. Elementos principales de las incubadoras de crecimiento para <i>H. bonariensis</i>	45
Figura 9. Interior de una incubadora de propagación de <i>H. bonariensis</i>	46
Figura 10. Elementos principales del sistema de fitorremediación.....	51
Figura 11. Líneas de soporte para <i>H. bonariensis</i> dentro del módulo de fitorremediación.....	52
Figura 12. Imágenes del reservorio y sus componentes.....	53
Figura 13. Disposición del medidor de luz LI-COR dentro de los módulos.....	58
Figura 14. Índice de saturación de sólidos y concentración de Pb^{2+} total con fosfato.....	63
Figura 15. Índice de saturación de sólidos y concentración de Pb^{2+} total sin fosfato.....	65
Figura 16. Índice de saturación de sólidos y concentración de Cd^{2+} y Hg_2^{2+} totales.....	66
Figura 17. Comportamiento de $C_{Pb^{2+}}$ y $M_{Pb^{2+}}$ con respecto al tiempo.....	71
Figura 18. Diagrama de la vista superior del módulo fitorremediador para muestras de homogeneidad.....	72
Figura 19. Fotografías de tejidos de <i>H. bonariensis</i> en distintos momentos de las corridas 1 y 2 de fitorremediación.....	73
Figura 20. Corridas 1 y 2. Concentración de Pb(II) en base húmeda.....	74
Figura 21. Corridas 1 y 2. Contenido de humedad.....	75
Figura 22. Corridas 1 y 2. Concentración de Pb(II) en base seca.....	77

Anexos

Anexo 1. Bitácora de incubadora de aclimatación.....	90
Anexo 2. Bitácora de incubadora de propagación	91
Anexo 3. Bitácora del sistema de fitorremediación	92

Agradecimientos

Agradezco a la UNAM, al Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, y al Instituto de Ingeniería por su apoyo académico, infraestructural y administrativo. Este proyecto pudo realizarse gracias al programa de becas CONACyT, con número de registro 709586. Agradezco también a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico el financiamiento parcial de este trabajo, a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con el proyecto Diseño de medidas de recuperación de la resiliencia y la calidad del agua en las costas del Golfo de México (IN104817).

Gracias a mi tutor, Dr. Edgar Mendoza, por su compromiso y apoyo en cada fase de este proyecto. A los integrantes de mi jurado, por su guía y observaciones durante estos dos años, gracias Dr. Francisco Flores, Dra. María Luisa Martínez, Dr. Pedro Ramírez y Dr. Rodolfo Silva. Gracias a la Dra. Patricia Moreno y su equipo de trabajo por las facilidades brindadas para realizar los muestreos en el CICOLMA.

Ligia Ramírez, tu dedicación y compañerismo fueron la clave para llegar exitosamente a nuestras metas. Fue un honor compartir contigo visiones profesionales, académicas y musicales.

A todo el equipo de Ingeniería de Costas y Puertos, por su profesionalismo y familiaridad. Y también por grandes momentos y recuerdos, gracias a Alfonso, Anahí, César, Cesia, Jéssica, Laura, M. Marca, Mario, Musmé y Tayra.

A mi familia que amo profundamente, y que son mi motivación de vida. Gracias a mi madre Rosario, por su fuerza. A mi hermana Raquel por su perseverancia. A Héctor por su apoyo incondicional.

Dedico esta tesis a Héctor Emigdio: que sea un pequeño peldaño en tu camino hacia la cima.

*And from Nature we should learn
that all can start again.
- Riz Ortolani*

Introducción

Los metales traza, incluidos los metales tóxicos como el plomo (Pb), están presentes y son transportados a lo largo del ciclo hidrológico desde la aparición del agua en la Tierra. En la interface río-océano y la plataforma continental ocurre una acumulación de metales traza naturales y de origen antropogénico. Los estuarios y las plataformas continentales son áreas donde se localizan generalmente puertos y centros industriales, coexistiendo con hábitats como los humedales. Los sistemas estuarinos son ambientes complejos y dinámicos debido a los gradientes en la composición química del agua, las concentraciones variables de materia suspendida y sus procesos hidrodinámicos.

La Convención sobre los Humedales (Convención de Ramsar) proporciona el marco para la cooperación internacional y la acción nacional en pro de la conservación y el uso racional de los humedales. Con base en lo anterior, desde el año 2004, las dos lagunas costeras veracruzanas de La Mancha y El Llano fueron designadas como sitio Ramsar. La laguna de La Mancha se localiza en el municipio de Actopan, estado de Veracruz, México. Algunos estudios han demostrado riesgos ambientales en esta laguna, y son reflejo del grado de alteración antropogénica en los ecosistemas costeros del Golfo de México. Así, en La Mancha se ha hallado contaminación por coliformes fecales, presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAs), y altas concentraciones de Pb biodisponible. Recientemente se han reportado niveles de Pb en muestras de agua de la laguna de La Mancha que no cumplen con la NOM-001-SEMARNAT-1996 ni con los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas, CE-CCA-001/89.

La fitorremediación es el uso eficiente de plantas para aplicar la remoción o inmovilizar agentes contaminantes en medios acuosos o en suelos. En las últimas dos décadas, la fitorremediación se ha convertido en una alternativa reconocida para retirar contaminantes del agua. A pesar de la poca extensión de este sitio Ramsar, en La Mancha se tienen reportadas 838 especies de plantas, que equivalen al 3.2% de las especies registradas en México. Esto califica a La Mancha como potencial poseedora de macrófitas que puedan ser aprovechadas en procesos de fitorremediación, bajo técnicas de humedales construidos.

Hydrocotyle bonariensis es una planta de crecimiento por rizoma, cuyo desarrollo se da primordialmente de forma clonal, es decir, con plantas hijas genéticamente idénticas a las madres. Así, la reproducción de esta especie no requiere obligatoriamente un proceso de germinación. *H. bonariensis* tiene una amplia distribución a lo largo de toda la costa del Golfo de México, incluyendo la zona de la laguna de La Mancha.

Los humedales naturales tienen la característica de mejorar la calidad del agua que pasa a través de ellos. Por otro lado, los humedales construidos han sido creados artificialmente para combatir la contaminación del agua en una amplia variedad de formas, pero con el uso central de plantas fitorremediadoras. El tratamiento sustentable de agua a través de humedales construidos está asociado con un bajo consumo de energía eléctrica, bajo costo, y bajos requerimientos de tecnología mecánica. Hay dos tipos de humedales construidos: de flujo superficial (o flujo horizontal), y de flujo sub-superficial (o flujo vertical). Los humedales construidos de flujo superficial son los que mejor imitan los ambientes naturales, y son más aptos para albergar especies de plantas de humedales debido a la presencia permanente de agua.

En el presente estudio se utilizó a *H. bonariensis* colectada del CICOLMA, en la laguna de La Mancha, para conocer su capacidad fitorremediadora contra el plomo soluble en un medio nutritivo acuoso. Para la ejecución de las pruebas de fitorremediación se construyó en condiciones de laboratorio un humedal construido (o humedal artificial) con flujo tipo horizontal. Los resultados de las pruebas mostraron que *H. bonariensis* es hiperacumuladora de plomo en sus raíces, y que es apta para procesos de fitoestabilización.

Justificación

La importancia de La Mancha radica en ser un humedal designado como sitio Ramsar, a la que se suman las actividades antropogénicas locales, lo que ha provocado la presencia de niveles de metales tóxicos fuera de normativas o que ponen en riesgo la salud del ecosistema y de los mismos pobladores que se benefician de los servicios ambientales que ofrece. El evaluar una remediación de contaminantes a través de plantas, permitirá sentar las bases de fitorremediación por medio de macrófitas de la región, sin una remediación invasiva los ecosistemas de La Mancha. También contribuirá a la conservación de la vegetación, el mejoramiento de la calidad de agua y el cumplimiento con las directrices de la Convención sobre los humedales y normatividad vigente.

Hipótesis

El uso de una planta clonal, con tolerancia al Pb^{2+} comprobada *in situ*, expresa un comportamiento fitorremediador en un sistema de humedal construido con flujo de agua horizontal a nivel laboratorio. *Hydrocotyle bonariensis* puede funcionar como planta fitorremediadora ya que es capaz de acumular Pb^{2+} en sus tejidos.

Objetivos

General

Evaluar el efecto fitorremediador en agua, de una planta originaria de la zona de la laguna de La Mancha, Veracruz, a escala laboratorio bajo condiciones de cuerpo de agua semicerrado para sorber Pb^{2+} del medio acuoso.

Específicos

1. Seleccionar un metal tóxico de impacto ambiental en la laguna.
2. Seleccionar una especie de planta aplicable para realizar fitorremediación, y que cumpla con las características compatibilidad con los ecosistemas naturales de La Mancha.
3. Caracterizar en condiciones de laboratorio el efecto fitorremediador de la planta elegida.

Organización del trabajo

En el capítulo uno se describen las características generales de los metales traza en el suelo, los nutrientes esenciales para las plantas vasculares, los riesgos ambientales en la laguna de La Mancha, y los conceptos básicos de la fitorremediación y de los humedales construidos.

En el capítulo dos se presentan los criterios para la elección de la planta fitorremediadora y el metal traza contaminante a remediar. También se describen los sistemas de incubación y fitorremediación construidos. Por último se mencionan las metodologías de cuantificación de plomo y los índices de fitorremediación.

En el tercer capítulo están las modelaciones de MINEQL de la interacción del plomo en medio acuoso nutritivo, los resultados del comportamiento del plomo soluble con respecto al tiempo en las corridas de fitorremediación, la concentración del plomo en las matrices sólidas, los índices de fitorremediación, y el balance de plomo en el sistema de fitorremediación.

Por último, el cuarto capítulo posee las referencias bibliográficas de este trabajo.

Capítulo 1. Antecedentes

1.1. Elementos metálicos en las fases del suelo

Para fines de caracterización del suelo, los elementos presentes en él se clasifican como mayores cuando sus concentraciones exceden 100 mg kg^{-1} , mientras que concentraciones menores definen a los elementos traza. La tabla 1 muestra las concentraciones promedio en corteza y suelo de 27 metales, tres metaloides (silicio, arsénico y antimonio) y ocho elementos no metálicos (boro, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, cloro y selenio). De acuerdo con la tabla 1, algunos de los elementos mayores incluyen oxígeno, silicio, aluminio, hierro, carbono, potasio, calcio, sodio, magnesio, nitrógeno, azufre, manganeso y fósforo (Sposito, 2008).

Los elementos mayores, como carbono, nitrógeno, fósforo y azufre son también llamados macronutrientes, es decir, que son absorbidos por los organismos en cantidades significativas, y que son esenciales para sus ciclos de vida. Por lo tanto, los ciclos biogeoquímicos globales de estos elementos son de gran interés, especialmente por la enorme influencia antropogénica a la que han sido sometidos (Sposito, 2008).

La tabla 1 enlista también, para la mayoría de los elementos, el factor de movilización antropogénica (FMA). El valor del FMA se calcula por medio del cociente de la masa de un elemento extraída anualmente (a través de minería o producción de combustibles fósiles), entre la masa liberada anualmente en los procesos naturales de intemperismo de la corteza y de la actividad volcánica. Ambas cantidades están basadas en datos obtenidos a nivel mundial. Si un FMA dado es superior a un valor de 10, se considera que tal elemento tiene una perturbación antropogénica significativa en su ciclo biogeoquímico global. De acuerdo con este criterio, los metales de transición (cromo, níquel, cobre, zinc, molibdeno y estaño), los metales tóxicos (plata, cadmio, mercurio y plomo), y los metaloides, arsénico y antimonio, tienen ciclos biogeoquímicos perturbados de forma significativa. Es comprensible que estos doce elementos figuran prominentemente en la mayoría de las regulaciones ambientales (Sposito, 2008).

La producción y demanda en aumento de algunos elementos en países desarrollados y en desarrollo sugieren una probabilidad creciente de su dispersión y contacto con el ambiente. Un elemento puede dispersarse desde que comienza la extracción de su mena, hasta que se vuelve apto para su uso o se convierte en un ingrediente de algún otro producto. Adicionalmente, las demandas en aumento de fertilizantes para la agricultura de alta producción puede incrementar esta probabilidad. En muchas instancias, el aporte de fuentes antropogénicas excede las contribuciones

de origen natural. Así que se ha vuelto evidente que las actividades humanas han alterado los ciclos globales de los elementos traza (Adriano 1986).

Tabla 1. Contenido promedio (medido en miligramos por kilogramo) de elementos no metálicos, metálicos y metaloides, y sus factores de movilización antropogénica (FMA). Adaptado de Sposito (2008).

Elemento y símbolo químico	Corteza	Suelo	FMA	Elemento y símbolo químico	Corteza	Suelo	FMA
Oxígeno (O)	472000	490000	No reportado	Cobalto (Co)	24	7	4
Silicio (Si)	288000	310000	<1	Berilio (Be)	2.4	0.6	2
Aluminio (Al)	79600	47000	<1	Selenio (Se)	0.12	0.26	No reportado
Carbono (C)	1990	16000	No reportado	Cesio (Cs)	3.4	4	12
Potasio (K)	21400	15000	<1	Uranio (U)	1.7	2.3	12
Calcio (Ca)	38500	9200	2	Vanadio (V)	98	58	14
Sodio (Na)	23600	5900	2	Hierro (Fe)	43200	18000	16
Magnesio (Mg)	22000	4400	<1	Arsénico (As)	1.7	5.2	27
Titanio (Ti)	4010	2400	1	Níquel (Ni)	56	13	56
Nitrógeno (N)	60	2000	No reportado	Estaño (Sn)	23	0.9	65
Azufre (S)	697	1200	No reportado	Molibdeno (Mo)	1.1	0.6	80
Bario (Ba)	584	440	4	Cadmio (Cd)	0.1	0.2	112
Manganeso (Mn)	716	330	10	Zinc (Zn)	65	48	115
Fósforo (P)	757	260	No reportado	Plomo (Pb)	14.8	16	127
Circonio (Zr)	203	180	4	Plata (Ag)	0.07	0.05	185
Estroncio (Sr)	333	120	3	Antimonio (Sb)	0.3	0.5	246
Cloro (Cl)	472	100	No reportado	Cromo (Cr)	126	37	273
Boro (B)	17	26	No reportado	Mercurio (Hg)	0.04	0.06	342
Litio (Li)	18	20	3	Cobre (Cu)	25	17	632

1.1.1. Clasificación de los elementos metálicos

Los elementos metálicos se clasifican en función de dos características importantes con respecto a su comportamiento biogeoquímico en suelos y sistemas acuáticos. La primera de ellas es el potencial iónico (PI), que equivale a la valencia de un catión metálico (Z) dividida por su radio iónico (RI) en nanómetros (ecuación 1).

$$\text{Potencial iónico} = \frac{\text{Valencia del catión}}{\text{Radio iónico}} = PI = \frac{Z}{RI} \quad \text{Ecuación 1}$$

Los cationes metálicos con $PI < 30 \text{ nm}^{-1}$ tienden a encontrarse como especies químicas solvatadas (cationes libres) en soluciones acuosas circunneutrales (cercanas a pH 7); aquellos con $30 \text{ nm}^{-1} < PI < 100 \text{ nm}^{-1}$ tienden a hidrolizarse fácilmente en aguas circunneutrales; y aquellos con $PI > 100 \text{ nm}^{-1}$ tienden a encontrarse como oxianiones (Sposito, 2008).

La segunda característica importante de los elementos metálicos es su comportamiento como clase A o como clase B. Un catión metálico es clase A si 1) tiene baja polarizabilidad (una medida de la facilidad con la que los electrones en un ion pueden ser apartados de su núcleo), y 2) tiende a formar fuertes complejos hidrofílicos (afines al agua) con ligandos en solución acuosa, a través de enlaces iónicos o incluso electrostáticos. Por otra parte, los metales clase B tienden a formar fuertes complejos lipofílicos (afines a las grasas) con ligandos en solución acuosa, a través de enlaces covalentes. Los complejos hidrofílicos buscan ambientes moleculares polares, como superficies celulares, mientras que los complejos lipofílicos buscan ambientes no polares, como membranas celulares. Por último, si un metal no es clase A ni clase B, entonces se le denomina de *frontera*. Los metales clase B de la tabla 1 son los *metales tóxicos*, plata, cadmio, mercurio y plomo, mientras que los metales frontera son los metales de transición (titanio, vanadio, cromo, manganeso, hierro, cobalto, níquel, cobre, zinc), junto con molibdeno y circonio (Sposito, 2008).

La clasificación de los metales de acuerdo con estas dos características puede ayudar a predecir su estatus como agentes tóxicos para las plantas y los microorganismos. En la figura 1 se muestra un diagrama en el que para un metal catiónico (es decir, un ión metálico de carga positiva) dado, si su PI es menor a 30 nm^{-1} y es un metal clase A, entonces no es probable que sea tóxico (por ejemplo, Ca²⁺), a menos que esté presente a muy altas concentraciones (por ejemplo, Li⁺ y Na⁺). Por otro lado, si el PI es mayor a 100 nm^{-1} (como Cr⁶⁺), o si es un metal de frontera con un PI mayor a 30 nm^{-1} (como los cationes divalentes de metales de transición), entonces es probable que sea tóxico. Ahora, si el PI es mayor a 30 nm^{-1} y menor a 100 nm^{-1} (como Be²⁺ o Al³⁺), o si el catión es clase B (por ejemplo Ag⁺, y metales divalentes, como Pb²⁺), entonces es muy seguro que sea tóxico (Sposito, 2008).

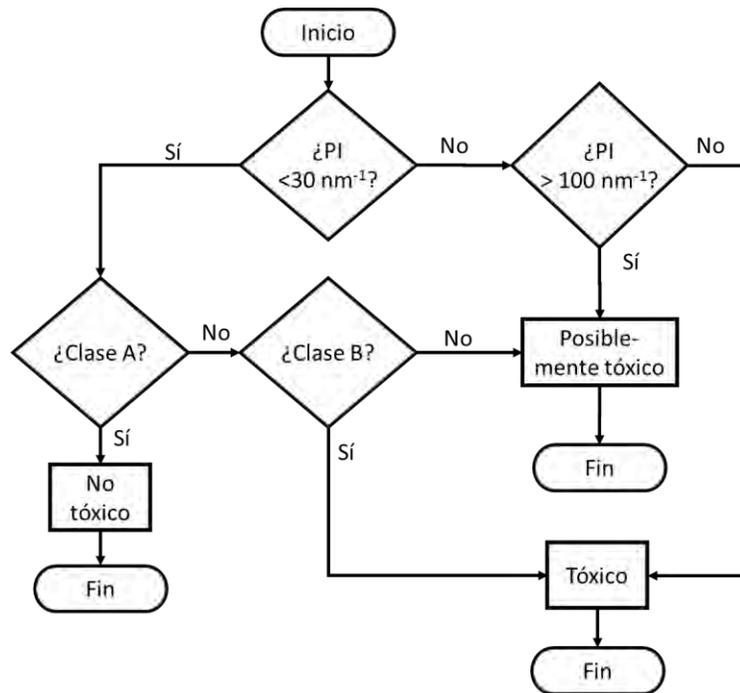


Figura 1. Diagrama de flujo para la clasificación toxicológica de un metal catiónico a pH circunneutral usando potencial iónico (PI) y carácter de clase A o B. Adaptado de Sposito (2008).

Tabla 2. Caracterización toxicológica de algunos metales que funcionan como nutrientes para las plantas. Se mencionan metales traza, incluidos los metales tóxicos plomo, cadmio y mercurio. Adaptado de Sposito (2008).

Elemento	Z	RI (nm)	PI (nm^{-1})	Comportamiento	Clase	Toxicidad	
>100mg/kg en suelo. Mayor	Fe	2	0.078	25.6	$<30nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
		3	0.065	46.2	$30nm^{-1} < PI < 100nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
	K	1	0.138	7.2	$<30 nm^{-1}$	A	No
	Ca	2	0.1	20.0	$<30 nm^{-1}$	A	No
	Mg	2	0.072	27.8	$<30 nm^{-1}$	A	No
	Mn	2	0.083	24.1	$<30 nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
<100mg/kg en suelo. Trazo	Zn	2	0.074	27.0	$<30 nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
	Cu	2	0.075	26.7	$<30 nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
	Mo	6	0.041	146.3	$>100 nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
	Ni	2	0.069	29.0	$<30 nm^{-1}$	Frontera	Posiblemente
	Pb	2	0.119	16.8	$<30 nm^{-1}$	B	Tóxico
	Cd	2	0.095	21.1	$<30 nm^{-1}$	B	Tóxico
	Hg	2	0.102	19.6	$<30 nm^{-1}$	B	Tóxico

En la tabla 2 se muestran cálculos realizados a distintos metales con el uso de la ecuación 1 y el diagrama de la figura 1. En esta tabla se incluyeron tanto elementos mayores como elementos traza. Todos, con excepción del plomo, el mercurio y el cadmio, participan en roles importantes para el desarrollo de las plantas mayores. Los elementos K, Ca y Mg no llegan a representar un riesgo al crecimiento de las plantas. Sin embargo, todos los clasificados como elementos frontera pueden llegar a ser tóxicos si se encuentran biodisponibles en condiciones fuera del balance requerido por las plantas. Por sus características, los metales tóxicos y de clase B, como el Pb, Hg y Cd no pueden ser considerados como metales que puedan representar un beneficio al desarrollo de los organismos.

1.2. Elementos nutritivos para las plantas

Los minerales presentes en la corteza terrestre son empleados por las plantas para su nutrición tomándolos del suelo o de un ambiente acuático. Estos elementos minerales se forman por las interacciones complejas que involucran la intemperización de las rocas, la descomposición de la materia orgánica, animales y procesos que llevan a cabo los microorganismos. De forma general, las raíces absorben los nutrientes minerales en forma de sales disueltas en el agua del suelo. Después de que estos elementos son absorbidos, se desplazan a varias partes de la planta donde desempeñan funciones biológicas importantes, que dan como resultado un crecimiento y desarrollo normales (Bahadur et al., 2015).

A finales del siglo XIX, se emprendieron numerosos estudios para establecer “la teoría del elemento mineral”, que especulaba acerca de la existencia de elementos esenciales (como nitrógeno, azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, sílice, sodio y hierro), para el crecimiento de las plantas. Estos organismos tienen una capacidad limitada para absorber selectivamente aquellos nutrientes minerales que son esenciales para su crecimiento. Inclusive, también pueden tomar elementos minerales que no son esenciales, y que pueden ser hasta tóxicos. Así, con base en una investigación extensiva de la composición mineral de diferentes especies de plantas, crecidas en diversos suelos, se concluyó que la concentración de elementos minerales en una planta no es el criterio para definir si son esenciales o no. Una vez que este hecho se esclareció, se llevaron a cabo experimentos en agua y arena, para los cuales algunos elementos en particular fueron omitidos. A la técnica de crecimiento de plantas en un medio de cultivo sin suelo se le denominó hidroponía. Estas técnicas fueron usadas para caracterizar individualmente qué tan esencial era cada elemento, lo que condujo a un mejor entendimiento de su papel en el metabolismo vegetal (Bahadur et al., 2015).

Tabla 3. Resumen de las funciones fisiológicas y los síntomas de la deficiencia de elementos metálicos y no metálicos en las plantas. Adaptado de Bahadur et al. (2015).

Elemento	Función primaria	Síntomas de deficiencia específicos
Nitrógeno	Constituyente de aminoácidos, proteínas, clorofila II, ácidos nucleicos y algunas coenzimas.	Clorosis (pérdida de coloración verde) en forma de "V" que empieza en la punta de hojas bajas. La planta se vuelve de color verde pálido. Crecimiento pobre.
Potasio	Involucrado en la activación enzimática, metabolismo de proteínas, membranas celulares, balance iónico, crecimiento celular, apertura y cierre del estoma, turgencia celular.	Clorosis en hojas viejas que gradualmente se convierten en lesiones necróticas en la punta de la hoja. Enrollamiento de las hojas. Crecimiento atrofiado.
Calcio	Constituyente de la pared celular, laminilla media. Cofactor de enzimas. Controla la permeabilidad de la célula. Involucrado en la comunicación celular.	Torcimiento y deformación del crecimiento de las hojas más jóvenes. Gradualmente ocurre necrosis en el borde de la hoja.
Fósforo	Involucrado en la fotosíntesis. Constituyente del ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidos en membranas.	Crecimiento atrofiado. El follaje se torna verde oscuro. Alta proporción raíz-brotes. Madurez retardada de las plantas.
Magnesio	Elemento central de la molécula de la clorofila II y un activador de varias enzimas.	Clorosis de hojas viejas. Coloración púrpura con puntos necróticos. Las hojas se vuelven más rígidas y las venas intercostales se tuercen.
Azufre	Componente de algunos aminoácidos (cisteína y metionina) y coenzimas.	Los síntomas aparecen en hojas jóvenes desarrolladas. Se aprecia una clorosis general en la hoja entera incluyendo haces vasculares.
Hierro	Involucrado en la biosíntesis de clorofila II. Componente estructural de la citocromos y la ferredoxina.	Los primeros síntomas aparecen en órganos jóvenes. Clorosis intervenal. En casos severos, las hojas se vuelven blancas y luego se secan.
Cloro	Regulación del estoma en algunas plantas. Estimulación de la ATPasa de la bomba de protones en el tonoplasto. Regulación osmótica.	Los primeros síntomas aparecen en hojas jóvenes. En la hoja hay reducción de su área superficial y marchitamiento de sus bordes. Clorosis intervenal de hojas maduras.
Cobre	Activador de algunas enzimas	Las hojas jóvenes se tornan verde oscuro, y se enrollan con puntos necróticos. Crecimiento internodal con detrimento. Crecimiento atrofiado.
Manganeso	Activador de algunas enzimas.	Puntos amarillos pequeños y clorosis intervenal en hojas jóvenes.
Zinc	Activador de algunas enzimas. Involucrado en la síntesis de auxina (fitohormona de crecimiento).	Crecimiento atrofiado debido al acortamiento internodal. Disminución drástica del crecimiento de la hoja.
Molibdeno	Cofactor de las enzimas involucradas en el metabolismo del nitrógeno.	Clorosis y crecimiento raquítico en hojas jóvenes. Reducción drástica en el tamaño.
Níquel	Cofactor metálico de la enzima ureasa.	Síntomas relacionados muy cercanamente con la deficiencia de hierro.

En la tabla 3 se resumen las funciones fisiológicas y los síntomas de deficiencia de los elementos minerales en las plantas.

Especialmente en plantas vasculares, un elemento se considera esencial si cumple los siguientes criterios (Adriano, 1986):

1. La omisión del elemento puede causar un crecimiento anormal, o el fracaso completo de su ciclo de vida, o una senescencia o muerte prematuras.
2. El efecto debe ser específico, y ningún otro elemento puede ser sustituido en su lugar; y,
3. El efecto debe ser directo en algún aspecto de su crecimiento o metabolismo. Los efectos benéficos secundarios o indirectos de un elemento no lo convierten en esencial.

1.3. Ciclos biogeoquímico de los elementos traza

1.3.1. Fuentes de los elementos traza

En un proceso natural, la roca madre es el principal origen de los elementos traza. Libres de interferencia humana, el contenido de elementos traza del suelo depende en gran medida de su cantidad en las rocas de las cuales derivó el material parental, y del proceso de intemperismo al cual los materiales formadores de suelo fueron sometidos.

Hay varias fuentes de elementos traza en el ambiente, tanto naturales como antropogénicos: roca madre, fertilizantes comerciales, materiales calizos, lodos de aguas residuales, residuos de origen animal, pesticidas, agua de irrigación, residuos de combustión de carbón, industrias fundidoras, emisiones de vehículos, etc. Con excepción de la roca madre, todos son antropogénicos por naturaleza. Las primeras siete fuentes mencionadas con anterioridad son las entradas primarias de los ecosistemas agrícolas (Adriano 1986).

1.3.2. En ecosistemas agrícolas

En los ecosistemas agrícolas, la importancia de las vías de transferencia de los elementos traza varía considerablemente, dependiendo del elemento traza, la especie de planta, el tipo de suelo, la ubicación, el terreno, las prácticas de gestión, entre otras. El equilibrio entre fracciones de elementos solubles, disponibles y no disponibles, indica que la solución del suelo es el “reservorio” principal para la transformación o adsorción del elemento traza. La ruta aérea es la principal vía de entrada de elementos traza a los ecosistemas agrícolas, por ejemplo, a través de aerosoles, materia particulada, polvo transportado por el aire o resuspendido. Los caminos de salida incluyen primordialmente las pérdidas a través de remoción del tejido de la planta para productos alimenticios, por lixiviación y por erosión. Debido a los cambios constantes en las salidas y entradas, los ecosistemas agrícolas están prácticamente fuera de un estado de equilibrio con respecto al ciclo

natural de transferencia de elementos traza. Dependiendo de varios factores, un ecosistema agrícola a veces está enriquecido con o deficiente de uno o más elementos traza. Muy rara vez pueden mantener una productividad máxima por varios años sin adición complementaria de algunos micronutrientes (Adriano 1986).

1.3.3. Circulación estuarina de metales pesados

El ciclo hidrológico, desde la aparición del agua en la Tierra, ha generado el medio para el intemperismo de los continentes, así como el mecanismo de transporte, junto con la atmósfera, de los metales traza (Salomons et al., 1984).

Durante su camino de los continentes a los océanos, los metales traza son sometidos a un gran número de procesos. En el transporte, los cambios ambientales generan una distribución entre las fases disueltas y particuladas. La acumulación en esta última causa una retención en el transporte hacia los océanos, la cual dura solo días o semanas bajo circunstancias normales (transporte en solución). Los metales traza particulados pueden permanecer acumulados en sistemas de lagos o ríos. Aun así, esto no significa que esos metales sean retirados del sistema. Los sedimentos actúan como un reservorio, y al cambiar las condiciones ambientales puede causar la movilización de los metales acumulados (Salomons et al., 1984).

En la interface río-océano y la plataforma continental ocurren procesos importantes en el transporte e intercambio de metales traza. En estas áreas, la acumulación de metales traza es tanto de origen natural como humano. Además, los estuarios y las plataformas continentales son áreas donde generalmente se localizan puertos y centros industriales. Una vez que los metales traza ribereños o atmosféricos han entrado a los océanos, éstos toman parte de los intrincados procesos biogeoquímicos y ciclos en el océano. Finalmente, se incorporan a los sedimentos oceánicos, donde pasarán millones de años antes de entrar al próximo ciclo hidrológico (Salomons et al., 1984).

Sin embargo, con la extracción a gran escala de mena de la corteza terrestre, es necesario tomar en cuenta la considerable influencia que el hombre tiene en los ciclos de los metales. Este es el caso específico de los metales encontrados en la atmósfera. Históricamente la velocidad de emisión de los metales traza a la atmósfera ha sido escasa debido a su baja volatilidad. Sin embargo, con la aparición de procesos a alta temperatura como la fundición y la quema de combustibles fósiles, la velocidad de emisión de algunos metales traza se ha incrementado sustancialmente. Este cambio de un control natural a uno antropogénico representa una perturbación significativa de los ciclos de los metales.

La influencia del hombre en el ciclo de los metales traza no se restringe al incremento de flujos. La deforestación, la construcción de puertos profundos, y las presas hechas por el hombre afectan la velocidad de transporte de los metales traza particulados. La acidificación de las aguas y suelos continentales, la introducción de agentes complejantes en sistemas naturales, así como también la eutrofización, afectan el comportamiento de los metales traza y causan perturbaciones en las vías naturales desde los ríos hasta los océanos.

Los estuarios son efímeros con respecto a una escala de tiempo geológica. Deben ser considerados como un tipo de terreno que evoluciona dinámicamente, y que pasa por un ciclo de vida desde la creación de un valle, seguido de una fase de inundación, y que termina con el relleno progresivo de sedimentos. El origen de la mayoría de los estuarios modernos data desde la elevación del nivel del mar después de la última era de hielo. El trasfondo histórico de un sistema estuarino es ampliamente determinado por el suministro de sedimento. El balance de masa de partículas en el estuario es controlado por el aporte de ríos, la atmósfera y el mar, al igual que la salida de sustancias hacia el océano y el fondo de este. El transporte neto hacia la costa de materia suspendida es influenciado por las olas, las mareas y la circulación estuarina típica, siendo ésta causada por los gradientes de densidad entre el agua del río y el agua de mar. Comparado con el comportamiento de los metales en los océanos o lagos, el sistema estuarino es más complejo y dinámico debido a los fuertes gradientes en la composición química del agua, las variables concentraciones de materia suspendida y los procesos hidrodinámicos complejos.

Las escalas temporales de los procesos estuarinos varían por varios órdenes de magnitud. El tiempo de residencia de los metales en los estuarios puede ir de días, hasta meses o años (en las aguas del fondo). Los estuarios son un componente importante del ciclo hidrológico, ya que determinan la cantidad de metales traza llevada por el río que entran a los ambientes costeros y finalmente al océano profundo. Además, los estuarios son a menudo sujetos a un gran aporte de contaminantes debido a que las áreas industriales y ciudades están frecuentemente adyacentes a ellos.

Es importante que el material de origen antropogénico sea tratado aparte. Este grupo incluye metales, partículas de desechos, desechos de procesos mineros (relaves), cenizas, pigmentos inorgánicos, materiales de construcción, radioisótopos, aguas residuales y otras partículas de desecho (Salomons et al., 1984). Los ecosistemas estuarinos pueden ser seriamente vulnerables a materiales tóxicos que no son inherentes a la historia de la biota. La contaminación de áreas costeras, incluyendo estuarios y mares marginales, puede atribuirse generalmente al menos a una de las siguientes causas:

- a) Aporte directo de efluentes de industrias y comunidades situadas cerca de la costa.
- b) Efluentes de comunidades a través de desagües de aguas negras.
- c) Desechos de residuos de barcos.
- d) Carga soluble y suspendida de ríos.
- e) Lluvia radioactiva.
- f) Desperdicios derivados de la extracción de materias primas del mar.
- g) Contaminación por la industria naviera.

1.4. Propiedades del plomo, y su impacto ambiental y a la salud

El plomo, con símbolo químico Pb, posee el número atómico 82, un peso atómico de 207.21, una densidad relativa de 11.337 a 20 °C, y un punto de fusión de 327.5 °C. En su estado elemental y a temperatura ambiente, el Pb es insoluble en agua, pero soluble en ácido nítrico (HNO_3). Es un metal suave de color plateado. Considerando una solubilidad en unidades de partes en peso de sal por 100 partes en peso de solvente (p/p), las sales de Pb que mejor se solubilizan en agua son el acetato de plomo, $Pb(C_2H_3O_2)_2$ (45.64 p/p a 15 °C); el nitrato de plomo, $Pb(NO_3)_2$ (38.8 p/p a 0°C; 138.8 p/p a 100 °C); el bromuro de plomo, $PbBr_2$ (4.75 p/p a 100 °C); y el cloruro de plomo, $PbCl_2$ (3.34 p/p a 100 °C) (Green, 1997).

Los métodos utilizados más habitualmente para el análisis de bajas concentraciones de Pb en materiales biológicos y ambientales son por flama, la cámara de grafito y la espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-AES, por sus siglas en inglés), y la voltimetría de separación anódica (OMS, 1995).

El nivel de Pb en la corteza terrestre es de aproximadamente 14.8 mg/kg (Sposito, 2008), y se encuentra principalmente en forma de sulfato de plomo. De acuerdo con la tabla 1, el FMA del Pb es de 127, lo cual representa una alteración de su ciclo biogeoquímico debido a actividades antropogénicas. La ocurrencia extendida del Pb en el ambiente es el gran resultado de la actividad humana, como la minería, la fundición, el refinamiento y el reciclaje informal del plomo; el empleo de gasolina con plomo; la producción de baterías y pinturas ácidas con plomo; la elaboración de joyería, soldadura, cerámica y vidrio de plomo en instalaciones informales o caseras; los desperdicios electrónicos; el empleo de plomo en ductos de agua y su soldadura (OMS, 2010).

El plomo es un agente tóxico que, en los humanos, afecta múltiples sistemas del cuerpo, entre ellos el neurológico, el hematológico, el gastrointestinal, el cardiovascular y el renal. Los niños son particularmente vulnerables a los efectos neurotóxicos del plomo, e incluso a niveles relativamente bajos de exposición, puede causar serios y, a veces, irreversibles daños neurológicos. Se estima que

la exposición al plomo comprende el 0.6% del total de las enfermedades globales, con la mayor cantidad de ellas en regiones en desarrollo. Las recientes reducciones en el uso de plomo en gasolina, pinturas, tuberías y soldaduras han dado resultados positivos en cuanto a disminuciones sustanciales en los niveles de plomo en la sangre de las personas. No obstante, aún existen fuentes importantes de exposición al plomo, particularmente en países en desarrollo (OMS, 2010).

1.4.1. Contaminación en el Golfo de México por plomo

Una gran variedad de metales son ampliamente usados en actividades industriales de las regiones costeras del Golfo de México, que son básicamente refinerías de petróleo, producción de fertilizantes, minería y metalurgia. Adicionalmente, los efluentes domésticos son relevantes porque descargan a los ríos aguas residuales con mayor cantidad de metales como Ni, Cr, Pb, Zn, Cd y Ag. La mayoría de los metales no son solubles en agua a un pH igual o mayor al neutro, y son fácilmente adsorbidos por la materia particulada, como compuestos inorgánicos o sedimentos. De ahí, los metales son asimilados por organismos vivos, o forman compuestos iónicos con aniones hidrosolubles. México y Perú son los países latinoamericanos más importantes en la producción de Pb. De 1972 a 1976 México produjo el 40% del total mundial. En 1995, México contribuyó con 179,740 Ton de Pb refinado. En México, el plomo se extrae de minas, siendo las más importantes las de Chihuahua y Zacatecas (Ware, 1998). En la tabla 4 se condensan los principales problemas ambientales en el Golfo de México, y que se detallan en secciones subsiguientes.

Tabla 4. Principales problemáticas ambientales en el Golfo de México y la laguna de La Mancha.

Región	Problemática ambiental	Fuente
Golfo de México	En una década, incrementó la concentración de Pb de 17 a 29.7 ppm en la columna de agua del río Coatzacoalcos.	Ware, 1998
	Incumplimiento al límite de Pb en agua de lagunas de Veracruz, Tabasco y Campeche.	Ware, 1998
La Mancha, Veracruz	Contaminación por coliformes fecales.	Moreno-Casasola, 2006
	Presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAs)	Botello et al., 2001
	La Mancha posee los valores más altos de Pb biodisponible (11 – 22 µg/g) que otras lagunas veracruzanas.	Ware, 1998
	Concentraciones de Cd y Pb en agua incumplen los niveles de la NOM-001-SEMARNAT-1996.	Martínez, 2017
	Concentraciones de Hg y Pb en agua incumplen el límite de los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89 para la protección de la vida acuática.	Martínez, 2017

En las áreas costeras del Golfo de México, los niveles más altos de Pb en la columna de agua fueron los determinados en el Río Coatzacoalcos, con 17.0 ppm en 1972, y hasta 29.4 ppm en 1982. Este gran aumento alcanzado en una década ha sido un problema relevante, ya que se incumplía con el

límite máximo permisible de 6.0 ppm establecida por la SEDUE (Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología) en 1990. Las concentraciones de Pb también fueron más altas que lo permitido en las lagunas de Tampamachoco (46 ppm) y Mandinga (125 ppm) en Veracruz, las lagunas de El Carmen (43 ppm), Machona (100 ppm) y Mecoacán (91 ppm) en Tabasco, y la laguna de Atasta (38 ppm) en Campeche. Estos altos valores pueden atribuirse principalmente al uso de tetraetil plomo en gasolinas y lubricantes, y a los desechos industriales descargados en estas lagunas. Las concentraciones promedio más altas de Pb ocurrieron en los estados de Tabasco (68.5 ppm) y Veracruz (62.7 ppm) (Ware, 1998).

1.5. Características generales de La Mancha

La laguna de La Mancha se localiza en el municipio de Actopan, estado de Veracruz, México (figura 2). Las coordenadas de la zona media de la laguna son 96° 23'09" E y 19°35'19" N. En verano predomina el tipo de clima Cálido Subhúmedo con lluvias en verano tipo Aw2. Las precipitaciones se mantienen en un rango de 1500 mm/año. Hay dos períodos: uno lluvioso, de junio a septiembre, durante el cual cae el 78% de la precipitación anual total; y el otro seco, de octubre a mayo. La temperatura promedio anual es de 24 °C, con una oscilación entre 21.1 °C y 27.3 °C (CONANP, 2003). La laguna de La Mancha comprende un espejo de agua de 135 ha que mide 3 km de longitud. Posee una barra que la separa del mar, y que se abre (natural o artificialmente) durante la época de lluvias. Su comportamiento hidrológico está fuertemente influenciado por factores como las entradas de agua dulce y salada, y las variaciones climáticas, en particular por la precipitación. Los únicos dos aportes permanentes de agua dulce a la laguna son el río Caño Grande, afluente de Caño Gallegos, y que se ubica al suroeste del sistema. El segundo aporte es el arroyo El Caño, que está al norte y que aporta una cantidad de agua menor que Caño Grande. A lo largo del año también se presentan aportes intermitentes que aparecen solamente en la época de lluvias. Especialmente se han reconocido tres zonas: la parte norte, que es la zona más cercana a la barra y al mar, que presenta características marinas; una zona de mezcla, en la parte media de la laguna; y la zona sur, que posee características dulceacuícolas debido a la influencia del río Caño Grande. La profundidad varía estacionalmente: la máxima ha sido de 2.4 m cuando la laguna está cerrada, y que se reduce a 0.67 m durante su apertura (Moreno-Casasola, 2006).



Figura 2. Mapa del estado de Veracruz, México. El municipio de Actopan se representa en el área blanca dentro del mapa. Igualmente se muestra una ampliación del área de la laguna de La Mancha.

En el área de La Mancha se encuentra el Centro de Investigaciones Costeras de La Mancha (CICOLMA), que es una estación de campo y una reserva privada de conservación del Instituto de Ecología A.C. (INECOL). Sus coordenadas son $96^{\circ}22'49$ E y $19^{\circ}35'25$ N, y tiene una superficie de 83.29 ha. La reserva natural comprende varios tipos de vegetación, como selva mediana subcaducifolia (39.80 ha). En la vertiente del sistema de dunas, hacia la laguna La Mancha, predomina la vegetación de dunas costeras (24.5 ha). En la depresión entre dunas se presentan humedales (4.88 ha) que incluyen a su vez tulares (0.28 ha), popales (0.36 ha), y selva baja caducifolia inundable (2.60 ha) (Moreno-Casasola, 2006).

1.5.1. Importancia como sitio Ramsar

La Ley de Aguas Nacionales define a los humedales como las zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, sujetas o no a la influencia de mareas, como pantanos, ciénagas y marismas, cuyos límites los constituyen el tipo de vegetación hidrófila de presencia permanente o estacional; las áreas en donde el suelo es

predominantemente hídrico; y las áreas lacustres o de suelos permanentemente húmedos por la descarga natural de acuíferos. Los humedales son indispensables por los innumerables beneficios que brindan a la humanidad, desde suministro de agua dulce, alimentos y materiales de construcción, y biodiversidad, hasta control de crecidas, recarga de aguas subterráneas y mitigación del cambio climático.

La Convención sobre los Humedales (o Convención de Ramsar, por la ciudad iraní donde fue adoptada en 1971) proporciona el marco para la cooperación internacional y la acción nacional en pro de la conservación y el uso racional de los humedales. Casi el 90% de los Estados miembros de las Naciones Unidas son miembros de los tratados Ramsar, dentro de los cuales está México. Desde el año 2004, la laguna costera de La Mancha, junto con la laguna costera de El Llano, en Veracruz, fueron designadas como sitio Ramsar (número de sitio 1336) (CONANP, 2003).

La Mancha y El Llano está conformado por dos lagunas costeras rodeadas de manglares y humedales de agua dulce, y también por dos lagunas interdunarias, siendo estas últimas una característica importante del sistema de dunas costeras de la región central del estado de Veracruz. A tal sistema lo integran lagunas interdunarias de distinto tamaño, que son de agua dulce y que se alimentan del manto freático. Actualmente en el Puerto de Veracruz existen 20 de este tipo de lagunas, sin embargo, llegaron a haber 200 de ellas. Su rápida desaparición se ha debido a la urbanización, ya que son rellenadas para obtener más superficie de construcción de viviendas. También son azolvadas o drenadas para tener terreno donde se realizan actividades agropecuarias (CONANP, 2003).

La variedad de humedales que conforman a las lagunas de La Mancha y El Llano permiten que en esta zona se localice una gran variedad de flora y fauna, a pesar de la poca extensión de este sitio Ramsar. Los humedales albergan gran variedad de plantas y animales. Ambas lagunas reciben numerosas especies de aves playeras y acuáticas, y se localizan en la ruta del corredor migratorio de aves rapaces más grande del mundo, y aunado a las dunas y las selvas locales, generan zonas de paso, descanso y alimentación de aves migratorias (CONANP, 2003).

En la laguna de La Mancha se tienen reportadas 838 especies de plantas, que equivalen al 3.2% de las especies registradas en México (CONANP, 2003). Esta diversidad se concentra en aproximadamente 2 km², a excepción del manglar, que rodea a la laguna en una superficie de 300 ha. Así, el resto de comunidades de plantas que se hallan en la laguna de la Mancha son: tular (2.29 ha), popal (1.47 ha), selva baja caducifolia inundable (1.47 ha), vegetación riparia, vegetación flotante y ceibadal (Moreno-Casasola, 2006).

1.5.2. Riesgos ambientales en La Mancha

Algunos estudios demuestran riesgos ambientales en La Mancha. Se ha encontrado, por ejemplo, que en la zona sur de la laguna, donde desemboca el arroyo Caño Grande, hay una contaminación significativa por coliformes fecales, que es causada por el transporte de agua de tal arroyo (Moreno-Casasola, 2006).

Botello et al. (2001) determinaron la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAs) que representan un riesgo ecológico para los organismos estuarinos que viven en la laguna de La Mancha. Un ducto de Petróleos Mexicanos (PEMEX) atraviesa esta zona a lo largo de la línea de costa; por consiguiente, el área ha sido influenciada por el uso de maquinaria y maniobras para enterrar el ducto, lo que ha vertido combustible y otros desechos al sistema lagunar de La Mancha. Estudios de las concentraciones de Pb biodisponible que se han evaluado en las lagunas de Veracruz, muestran que los valores más altos (11 – 22 µg/g) se han encontrado en las lagunas de La Mancha, El Llano y Mandinga. Esto indica que los organismos de estas lagunas, que son principalmente moluscos, están severamente expuestos a la acumulación de Pb (Ware, 1998).

En un estudio reciente, Martínez (2017) reporta mediciones de presencia de cadmio, mercurio y plomo en la zona de la laguna de La Mancha. Sus análisis fueron aplicados a muestras de agua y de sedimento. Los niveles máximos de Cd, Hg y Pb hallados en las muestras de sedimento fueron 1.59 mg/kg, 0.108 mg/kg y 15.92 mg/kg respectivamente. En cuanto a las muestras de agua, los niveles máximos de Cd, Hg y Pb encontrados fueron 0.149 mg/L, 0.0005 mg/L y 1.34 mg/L correspondientemente.

En el caso de los muestreos realizados por Martínez (2017) en el agua de La Mancha, los niveles de Cd y Pb, incumplen los niveles marcados por la NOM-001-SEMARNAT-1996 (Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales). Para Cd esta norma marca no más de 0.1 ppm como promedio mensual, tanto en aguas para suelos de humedales naturales como en aguas costeras de estuarios. En el caso de Pb, la norma marca no más de 0.4 ppm como promedio diario, y no más de 0.2 ppm como promedio mensual, tanto en aguas para suelos de humedales naturales como en aguas costeras de estuarios. Por otro lado, los niveles de Hg y Pb en agua incumplen el límite que marcan los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89 para la protección de la vida acuática. En agua marina de áreas costeras, estos criterios marcan un valor máximo permisible de Pb de 0.006 ppm, y de Hg 0.00002 ppm.

1.6. Fitorremediación

La fitorremediación (del griego *phytos*, que significa “planta”, y de latín *remedium*, que significa “restaurar el balance”) es un término genérico para el grupo de tecnologías que utilizan plantas para

la remediación de suelos, aguas residuales, sedimentos y agua contaminados con agentes orgánicos e inorgánicos (UNEP, 2002).

La fitorremediación puede definirse como “el uso eficiente de plantas para retirar, depurar, inmovilizar o modificar a estructuras menos dañinas, los contaminantes ambientales en una matriz de crecimiento (suelo, agua o sedimentos) por medio de los procesos químicos, biológicos o físicos de las plantas” (UNEP, 2002).

1.6.1. Ventajas y desventajas de la fitorremediación

Los ecosistemas acuáticos, incluyendo los humedales, llegan a ser usados directa o indirectamente como receptores de líquidos y sólidos potencialmente tóxicos, que provienen de fuentes domésticas, de la agricultura y de desechos industriales. La limpieza de suelos contaminados y de humedales es necesaria para reducir el riesgo de toxicidad por metales en humanos y en los ecosistemas. A la fecha, diferentes enfoques químicos, físicos y biológicos han sido empleados para este propósito. La remediación convencional incluye métodos *in situ* como la vitrificación (fusión a alta temperatura para obtener un sólido), la incineración del suelo, excavación y rellenos sanitarios, lavado de suelos, solidificación, y estabilización de sistemas electro-cinéticos. De forma general, los métodos químicos y físicos sufren limitaciones, como costo elevado, alta demanda de mano de obra, cambios irreversibles en las propiedades del suelo, y alteraciones en la microflora nativa del suelo. Adicionalmente, los métodos químicos pueden generar problemas de contaminación secundarios (Hasegawa et al., 2016).

En las últimas dos décadas, de forma creciente, la fitorremediación se ha convertido en una alternativa reconocida para el tratamiento de contaminantes, como los metales tóxicos. A diferencia de los compuestos orgánicos, los metales tóxicos no pueden ser degradados ni transformados, y requieren forzosamente su retiro íntegro del ambiente afectado. La mayoría de los métodos convencionales de remediación no poseen ventajas económicas ni la aceptación pública debido a que son costosos, y causan la degradación de la fertilidad del suelo, que eventualmente resulta en impactos adversos al ecosistema. La fitorremediación es una tecnología rentable y amigable con el ambiente, de la cual han derivado dos enfoques para tratar a los metales tóxicos. El primer enfoque es la fitorremediación natural, que emplea plantas hiperacumuladoras y microorganismos asociados al suelo. Por otro lado, se tiene a la fitorremediación inducida, que se refiere a la utilización de químicos (como ligandos quelantes sintéticos), para incrementar la biodisponibilidad de del metal y su adsorción a la planta. Recientemente las plantas modificadas genéticamente han sido propuestas para su uso en tecnologías de fitorremediación, aunque con una difusión menos extendida debido

a razones de legislación (Hasegawa et al., 2016). Sin embargo, es necesario desarrollar y fortalecer métodos alternativos, como la fitorremediación, que sean baratos y eficientes para la remediación de suelos y humedales contaminados.

No obstante, una gran desventaja de la fitorremediación es que requiere una inversión de tiempo relativamente mayor que los métodos físicos y químicos, ya que el proceso depende de la capacidad de las plantas para desarrollarse fuera de su ambiente natural. De acuerdo con Hasegawa et al. (2016), otras limitaciones de las aplicaciones de la fitorremediación son las siguientes:

- a) Tiempo de operación largo para lograr la remediación.
- b) La eficiencia de fitorremediación en la mayoría de las plantas hiperacumuladoras está limitada usualmente por su baja tasa de crecimiento y de producción de biomasa.
- c) Dificultad para movilizar (biodisponibilidad) fracciones de iones metálicos fuertemente unidas al suelo.
- d) La fitorremediación está limitada al área superficial y la profundidad que ocupan las raíces de las plantas.
- e) No se puede prevenir completamente la lixiviación de los contaminantes al agua subterránea.
- f) La fitorremediación es preferible en sitios con niveles moderados del metal contaminante. En lugares altamente contaminados, las concentraciones de metales tóxicos pueden dificultar el crecimiento normal de las plantas hiperacumuladoras.
- g) Hay un riesgo de contaminación en la cadena alimenticia en caso de existir una mala gestión del método fitorremediador. La bioacumulación de metales tóxicos en productores primarios (como fitoplancton), plantas comestibles o de empleo agropecuario, pueden generar una propagación de estos metales en diversos niveles tróficos, o en actividades comerciales que afecten la salud humana.

1.6.2. Tipos de estrategias de fitorremediación

De acuerdo con las capacidades naturales de las plantas fitorremediadoras, la restauración de suelos contaminados y de humedales puede alcanzarse empleando las siguientes estrategias.

- 1. Fitoextracción.** Es la absorción de contaminantes del suelo o el agua por medio de las raíces de las plantas y su translocación a biomasa que pueda ser recolectada (brotes). La translocación de metales tóxicos de las raíces a los brotes garantiza un adecuado protocolo de fitoextracción, ya que la recolección de la biomasa de las raíces no siempre es asequible debido a su ubicación dentro del suelo. En general, la fitoextracción ha sido probada más

frecuentemente para extraer metales tóxicos que para compuestos orgánicos. Algunos ejemplos de especies de plantas fitoextractoras son el girasol (*Helianthus annuus*) para As; el sauce (*Salix viminalis*) para Cd, Zn, Ni, Pb y Cu; mostaza de la india (*Brassica juncea*) para Pb. La fitoextracción se puede ejecutar como un proceso natural o como uno inducido. La fitoextracción natural se basa en el uso de plantas hipercumuladoras que tienen la habilidad excepcional de acumular y tolerar metales tóxicos. Por otro lado, en la fitoextracción inducida se agrega al suelo un fluido que contiene un quelante para aumentar la solubilidad del metal o su movilidad, y así las plantas puedan absorber concentraciones más altas de los metales (Hasegawa et al., 2016).

2. **Fitoestabilización.** Esta estrategia implica la inmovilización del contaminante en el suelo a través de la adsorción sobre las raíces, y la adsorción y la acumulación en ellas. A diferencia de la fitoextracción, la fitoestabilización se enfoca principalmente en el secuestro de contaminantes cercanos a las raíces. Esta técnica es usada para reducir la movilidad y la biodisponibilidad de metales tóxicos en el ambiente, por ende previniendo su dispersión dentro de los ecosistemas, su lixiviado a aguas subterráneas o su entrada a la cadena trófica. La fitoestabilización ocurre alrededor de las raíces debido a cambios en el comportamiento químico de los contaminantes, que se vuelven insolubles y/o inmovilizados en los componentes del sustrato donde crece la planta. La influencia de las plantas sobre la movilidad de los metales tóxicos ocurre de diferentes formas (Hasegawa et al., 2016):
 - a) Proteínas y/o enzimas son liberadas por las raíces hacia la rizosfera (sección del suelo inmediata a las raíces vivas y que está bajo la influencia de estas), lo que lleva a la inmovilización de los metales tóxicos ya sea en el suelo o en la superficie de las raíces.
 - b) Los metales tóxicos son adsorbidos por las plantas y secuestrados en el sistema de raíces.
 - c) Si el suelo está en proceso de erosión, el crecimiento de las plantas en él actúa como una barrera para el suelo contaminado a ser expuesto a la acción del viento, el agua, y su contacto directo con humanos o animales.
4. **Fitovolatilización.** La fitovolatilización es la adsorción de contaminantes por parte de las plantas para su conversión posterior a una forma volátil, que es en última instancia liberada a la atmósfera. Esta estrategia puede ser usada para contaminantes orgánicos y algunos elementos tóxicos como Hg, Se y As, que tienen formas gaseosas. Tomando como ejemplo al metilmercurio (una forma tóxica del Hg), la ventaja de la fitovolatilización con este

compuesto es que la planta puede transformarlo a una forma menos tóxica, que es el Hg volátil. Sin embargo, la limitante significativa de la fitovolatilización en este caso, es que es muy probable que el Hg elemental que ya fue liberado a la atmósfera sea reincorporado por la lluvia y depositado nuevamente en el ecosistema (Hasegawa et al., 2016).

5. **Fitodegradación.** La fitodegradación se refiere a la descomposición microbiana de contaminantes, en particular de los orgánicos, en la rizosfera. La razón principal por la que la degradación de los contaminantes orgánicos aumenta en la rizosfera es por la alta actividad metabólica de microorganismos en esta zona. Las plantas pueden estimular una actividad microbiana de 10 a 100 veces más alta en la rizosfera que en el resto del suelo, debido a la secreción de exudados que contienen sustancias como carbohidratos, aminoácidos y flavonoides, que fungen como nutrientes para los microorganismos (Hasegawa et al., 2016).
6. **Fitofiltración (rizofiltración).** La fitofiltración es la remoción de contaminantes con el empleo de plantas acuáticas. Esta técnica está relacionada con la fitoextracción. La fitofiltración puede clasificarse en rizofiltración (uso de las raíces), blastofiltración (uso de plantas jóvenes germinadas), caulofiltración (uso de brotes extirpados). El proceso de fitofiltración comprende la biosorción y acumulación de contaminantes por parte de plantas acuáticas (flotantes y sumergidas). Algunos ejemplos incluyen a la alfalfa (*Medicago sativa*) para Cd, Cr, Pb y Zn; helechos (*Pteris vittata* y *Pteris cretica*) para As; jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) para Cd y Zn; lenteja de agua (*Spirodela polyrhiza*) para As (Hasegawa et al., 2016).
7. **Fitotransformación-desintoxicación.** La fitotransformación de metales tóxicos no es una técnica de remediación directa con el uso de plantas, ya que desintoxica, es decir, reduce la toxicidad de los metales hacia los organismos. Hay algunos microorganismos, entre ellos bacterias, hongos y fitoplancton, que en el suelo o en medio acuático, exhiben los mecanismos para transformar a los metales y metaloides a sus formas menos tóxicas (Hasegawa et al., 2016).

1.6.3. Índices de fitorremediación

El grado de la capacidad de las plantas para tolerar, inmovilizar y/o adsorber los contaminantes, y, en especial, los metales tóxicos, puede medirse con índices de fitorremediación. Tales índices ayudan a describir el comportamiento de las plantas contra contaminantes en específico, y a clasificarlas como plantas hiperacumuladoras, o capaces de realizar fitoextracción o

fitoestabilización. A continuación se presentan los dos principales tipos de índices usados en las técnicas de fitorremediación.

- a) **Factor de Translocación (FT).** Este factor describe la capacidad de la planta para transferir el metal tóxico desde la raíz a otros tejidos, como tallos, hojas, brotes, o en general estructuras aéreas (es decir, que están fuera del suelo o del medio acuático) (Ansari et al., 2015). En otras palabras, el FT es un índice de la idoneidad de la planta para ser usada en procesos de fitoextracción. El FT se calcula por medio del cociente entre la concentración del contaminante en los brotes y la concentración del contaminante en las raíces. Una planta que exhibe un FT mayor a 1 se le clasifica como una planta que puede realizar fitoextracción, es decir, la absorción, translocación y acumulación de contaminantes en los brotes (Mojiri et al., 2013; Yoon et al., 2006; Fitz et al., 2002).
- b) **Factor de bioconcentración (FB).** Este factor indica la capacidad de la planta para retener en sus raíces el contaminante, con respecto a la matriz de crecimiento (Ansari et al., 2015), y ayuda a decidir si puede ser empleada en procesos de fitoestabilización y fitofiltración. Debido a que la matriz donde crece la planta puede ser suelo o agua (si es que se contemplan las plantas acuáticas), el FB puede estar referido a un sustrato sólido o a una matriz acuosa. Así, un FB con respecto al suelo se calcula con el cociente de la concentración del metal tóxico en las raíces con la concentración del metal tóxico en el suelo (Ansari et al., 2015). Por otro lado, si la referencia es una matriz acuosa, el FB se calcula con el cociente de la concentración del metal tóxico en las raíces con la concentración del metal tóxico en el agua en forma soluble. Este FB se usa sobre todo para caracterizar plantas acuáticas, y es útil para encausarlas a procesos de fitofiltración. De acuerdo con Olgún et al. (2012) y Zayed et al. (1998), una planta hiperacumuladora exhibe un FB con respecto al medio acuoso superior a 1000 lkg^{-1} .

1.6.4. Plantas de La Mancha con potencial capacidad fitorremediadora

A lo largo del tiempo, varios estudios han sido conducidos para conocer la capacidad de las plantas para tolerar y translocar metales tóxicos a sus tejidos. La forma en que generalmente se conoce esto es por medio de muestreos *in-situ* de un área contaminada, como minas, humedales o riberas, de donde se toman muestras de plantas y se analizan para posteriormente calcular sus respectivos índices de fitorremediación. Estas acciones han sido de gran ayuda para conocer la aplicación de las plantas en procesos de fitorremediación específicos.

La laguna de La Mancha, con su gran variedad de especies vegetales, posee un importante acervo de plantas de las que se tienen evidencias de su potencial uso en fitorremediación. La tabla 5 muestra ejemplos de las plantas mencionadas en el listado florístico de este sitio Ramsar (CONANP, 2003) y que cuentan con estudios de su interacción con metales pesados y algunos compuestos orgánicos.

La variedad de plantas en la tabla 5 incluye árboles, como *Jatropha curcas*; pastos, como las especies en la familia Gramineae; plantas comestibles, como *Bidens pilosa*, que se llega a usar como quelite (Vibrans, 2009); plantas acuáticas, como *Pistia stratiotes*; y plantas clonales, como las de la familia Annonaceae.

Tabla 5. Plantas pertenecientes al listado florístico del sitio Ramsar de La Mancha y El Llano, que exhiben notable tolerancia y absorción especial a metales pesados, y a algunos compuestos orgánicos.

Familia	Especie	Contaminante	Referencia
Alismataceae	<i>Sagittaria lancifolia</i>	Crudo	Willey, 2007; Kvesitadze, 2006
Amaranthaceae	<i>Amaranthus hybridus</i>	Cd, Ni, Pb, Hg Cu, Mg, Sr, Ti, Zn	Sharma, 2015 Franco-Hernández, 2010
	<i>Amaranthus spinosus</i>	Cu, Pb, Cd, Zn, Cr	Mazumdar, 2015; Sharma, 2015
Apiaceae	<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	Pb	Mendoza, 2015
	<i>Hydrocotyle umbellata</i>	Cr, Zn, Na and Cu	Sharma, 2015
Araceae	<i>Pistia stratiotes</i>	Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn	Sharma, 2015
Compositae	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Pb	Ansari, 2015
	<i>Bidens pilosa</i>	Zn, Cd	Yang, 2014
	<i>Mikania micrantha</i>	Pb	Mazumdar, 2015
	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Cr, Cu, Ni, Pb, Cd, Zn	Irshad, 2015; Kumar, 2013
	<i>Tridax procumbens</i>	Cr	Kumar, 2013
	<i>Xanthium strumarium</i>	Pb, Ni	Irshad, 2015
Convolvulaceae	<i>Ipomoea aquatica</i>	Pb, Zn	Mazumdar, 2015
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	Zn	Chatterjee, 2011
Euphorbiaceae	<i>Phyllanthus amarus</i>	Cu, Cd	Kumar, 2013
Gramineae	<i>Cynodon dactylon</i>	Pb, Co, Ni Cr	Sharma, 2015 Chatterjee, 2011; Wang, 2008
	<i>Eleusine indica</i>	Mg, Zn Pb, Cd, Cr	Mazumdar, 2015 Irshad, 2015
	<i>Paspalum notatum</i>	Pb, Zn	Zou, 2012; Shu, 2002
	<i>Panicum maximum</i>	Crudo Trinitrotolueno (TNT)	Ansari, 2015
Palmae	<i>Jatropha curcas</i>	Pb, Cd	Sharma, 2015
Typhaceae	<i>Typha domingensis</i>	Cd, Cu, Pb, Zn	Hasegawa, 2016; Farrag, 2013

1.6.5. Características *H. bonariensis* y las plantas clonales

Hydrocotyle bonariensis es una planta de crecimiento por rizoma (estructura que une a cada genet o nódulo por debajo del sustrato de crecimiento) y que llega a formar extensas comunidades clonales. Conjuntos de clones interconectados físicamente llegan a cubrir áreas de hasta 100 m², constituidos por aproximadamente 1500 ramets (Evans, 1988). Los rizomas crecen linealmente, en sentido del ápice, y producen hojas y raíces solitarias en nódulos espaciados de forma regulada (figura 3). Un nódulo es la unidad independiente más pequeña que posee un potencial de desarrollo fisiológico, y por lo tanto se le considera un ramet. La aparición de nuevos clones, es decir, un conjunto de ramets, conforma a un genet.

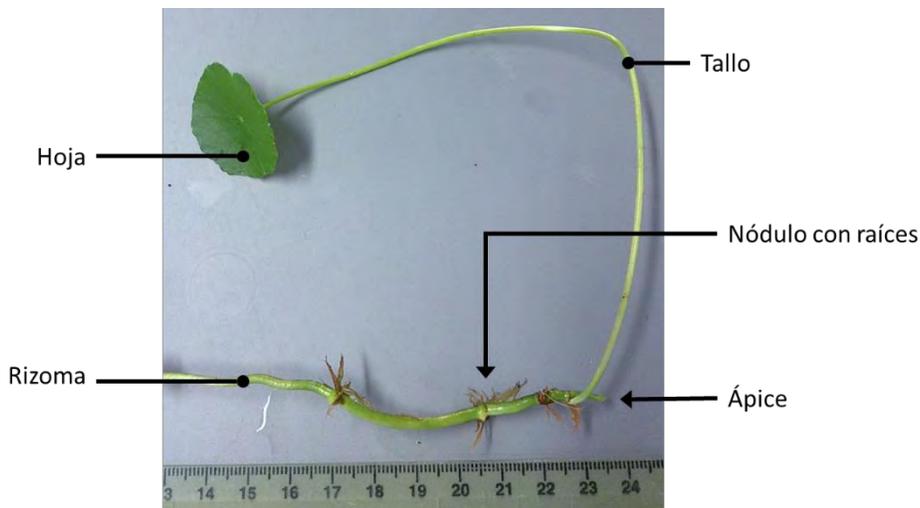


Figura 3. Imagen de un genet de *Hydrocotyle bonariensis* crecido en el Laboratorio de costas y puertos del Instituto de Ingeniería de la UNAM. La escala mostrada está en centímetros.

Hydrocotyle bonariensis pertenece a la familia Apiaceae. Al género *Hydrocotyle* pertenecen otras siete especies: *H. prolifera*, *H. umbellata*, *H. mexicana*, *H. leucocephala*, *H. verticillata*, *H. pusilla* y *H. ranunculoides*. En México, *H. bonariensis* está ampliamente distribuida en las zonas costeras del Golfo de México. Aparte de la laguna de La Mancha, su presencia se ha reportado en zonas húmedas desde la parte central de Tamaulipas, hasta el centro y sur de Veracruz (Moreno-Casasola, 1988), al igual que en las costas de Tabasco, Campeche y Yucatán (Castillo et al., 1996). Su presencia también se ha registrado en otras regiones del Golfo de México, como las costas de Texas, Mississippi, Louisiana y la costa oeste de Florida, en zonas de playas con agua subterránea poco profunda. La distribución de *H. bonariensis* continúa en la costa sudeste de los Estados Unidos, principalmente

en Carolina del Norte, Carolina del Sur y Georgia, donde crece en zonas húmedas y detrás de la preduna (Moreno-Casasola, 1988). Por último, Mendoza et al. (2015) realizaron muestreos de *H. bonariensis* recolectados *in situ* en la cuenca de los ríos Matanza y Riachuelo, Argentina. En la figura 4 se muestra un mapa con la distribución de *H. bonariensis* a lo largo del Golfo de México y costas estadounidenses del océano Atlántico.

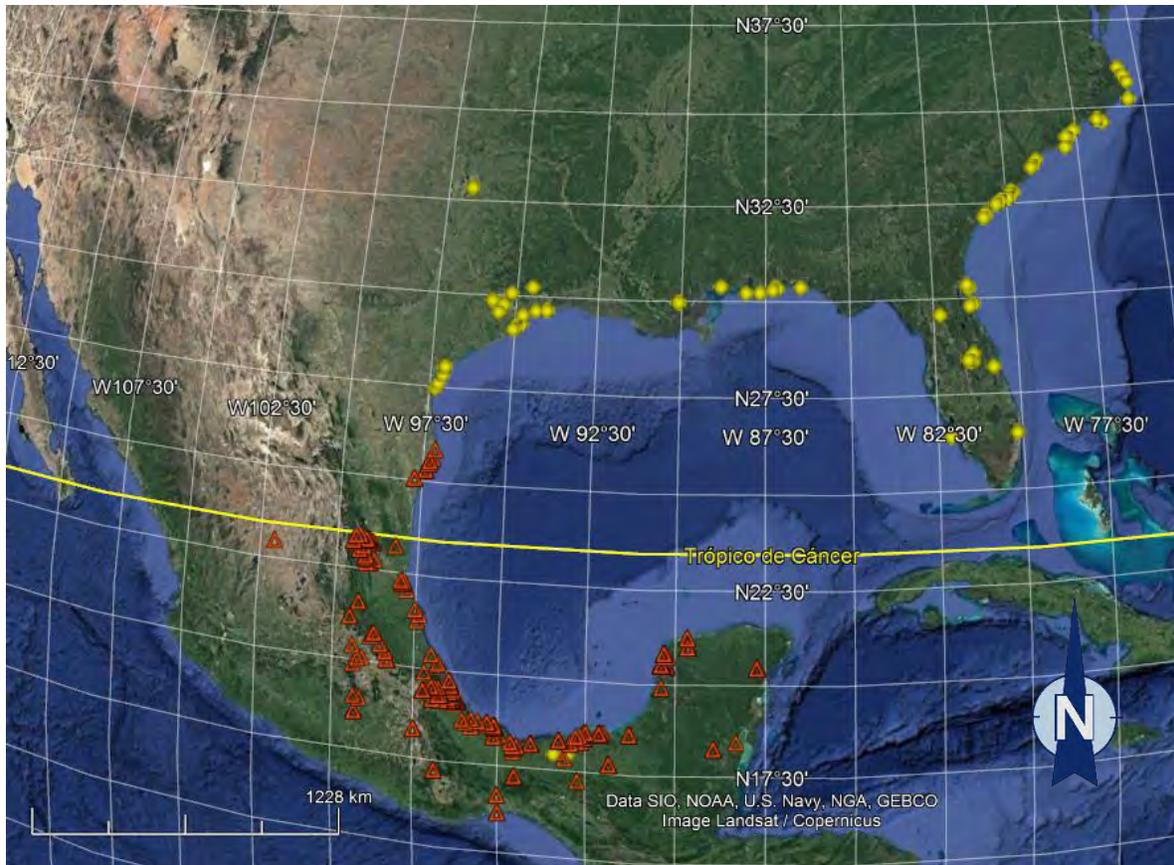


Figura 4. Mapa de distribución de *Hydrocotyle bonariensis* (CONABIO). Los puntos amarillos indican las observaciones de grado de investigación del programa *Naturalista*. Los triángulos rojos muestran las ubicaciones del registro del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad de México (SNIB), tanto por museos, colectas y proyectos.

El crecimiento clonal está muy diseminado entre las plantas mayores. Existe una gran diversidad de formas de crecimiento clonal, y muchas de ellas contribuyen significativamente a la estructura de la vegetación. Varios tipos de comunidades en el mundo están dominados por especies clonales.

La definición de crecimiento clonal está basado en el desarrollo modular. Los organismos clonales se propagan produciendo repetidamente unidades de desarrollo. Una característica específica de

las formas de vida clonal es que estas unidades pueden volverse fisiológicamente autónomas. Así, un individuo genético (genet) puede consistir de numerosos individuos fisiológicos (ramets).

El tiempo de vida de cada ramet es finito, pero el genet puede perpetuar el suyo al producir nuevos ramets, y sobrevivir cientos, o incluso, en algunas especies, miles de años. Un genet es capaz de propagarse de forma lateral extensivamente durante su vida. Nuevos ramets se producen lejos de sus padres, y así el clon ocupa nuevos lugares. En la naturaleza no son raros los coeficientes de difusión de 50 a 100 cm²/año. Esta notable capacidad de movilidad es una consecuencia directa del crecimiento horizontal y la autonomía de los ramets. Los grupos o individuos de ramets pueden volverse fisiológicamente independientes del resto del clon. Algunas partes del clon pueden estar creciendo vigorosamente mientras que otras sufren estrés o mueren (Oborny et al., 2002).

Hay tres resultados que podrían surgir al mantener las conexiones con ramets recién formados en un ambiente desfavorable: 1) los ramets reciben sustento solo inicialmente; los recursos son subsecuentemente retirados, y se prescinde de los ramets, 2) los ramets no reciben un soporte neto, lo que genera un crecimiento fisiológicamente independiente del resto del clon, 3) el transporte de los nutrientes provoca un soporte y mantenimiento del crecimiento clonal en el ambiente desfavorable (Evans, 1988).

El crecimiento horizontal extensivo implica que diferentes partes del mismo clon tienen una alta oportunidad de experimentar diferentes condiciones del hábitat. Las distribuciones de nutrientes y de luz son a veces heterogéneas incluso en escalas espaciales pequeñas (de centímetros). Por lo tanto, el fenómeno que ocurre más comúnmente en las especies clonales es que las condiciones de crecimiento difieran en dos partes del mismo individuo. Varias respuestas adaptativas a la heterogeneidad del hábitat han sido descritas en las plantas, pero las especies clonales tienen la opción de una respuesta específica: la fragmentación. Esta opción es el resultado de su capacidad de producir módulos autónomos (Oborny et al., 2002).

Entre las especies clonales, hay una gran variación del grado de autonomía del ramet. Algunas especies cesan todo transporte a lo largo de las conexiones del ramet padre después de establecer nuevos ramets; a estas especies se les llama “separadores” (o en inglés *splitters*). Otras permanecen fisiológicamente conectadas, y siguen transportando recursos. Solo lesiones o daños en las conexiones de los ramets pueden forzarlos a independizarse. Estas especies se llaman integradores. Un efecto de la integración es que la heterogeneidad de los atributos del hábitat (como nutrientes, o humedad) donde crecen las distintas partes del clon, puede ser promediada entre los ramets interconectados (Oborny et al., 2002).

1.6.6. Humedales construidos

Los humedales naturales tienen la característica de mejorar la calidad del agua que pasa a través de ellos, actuando como filtros eficientes del ecosistema. En contraste, la mayoría de los humedales construidos (HC) son creados artificialmente para combatir la contaminación del agua en una amplia variedad de formas. El tratamiento sustentable de agua está asociado con un bajo consumo de energía eléctrica, bajo costo, y, en algunas situaciones, bajos requerimientos de tecnología mecánica. Por lo tanto, los sistemas de humedales para tratamiento de agua podrían ser una alternativa eficiente para los sistemas de tratamiento convencionales, especialmente en pequeñas comunidades o áreas rurales. La eficiencia del tratamiento de la mayoría de los humedales construidos depende del diseño del humedal, el tipo del sistema de humedal, el clima, la vegetación y las comunidades microbiológicas. Los HC están diseñados con el propósito de remover bacterias, virus entéricos, sólidos suspendidos, demanda biológica de oxígeno, nitrógeno (predominantemente como amoníaco y nitrato), metales y fósforo (Scholz, 2011).

De forma general, dos tipos de humedales construidos suelen comisionarse en la práctica: de flujo superficial (como por ejemplo, flujo horizontal) (figura 5), y de flujo sub-superficial (como por ejemplo, flujo vertical) (figura 6). Los HC de flujo superficial son los que mejor imitan los ambientes naturales, y son más aptos para albergar especies de plantas de humedales debido a la presencia permanente de agua. Mientras que en los humedales de flujo sub-superficial, el agua pasa lateralmente a través de un medio poroso (usualmente arena y grava) con un número limitado de especies de macrófitas. Estos sistemas suelen no tener presencia permanente de agua (Scholz, 2011).

Las plantas en los humedales suelen ser un factor central para los HC. El interés en los sistemas de macrófitas para tratamiento de aguas residuales de las industrias data desde los años 1980s. A lo largo del tiempo se han ido comprobando las aptitudes de diferentes especies de macrófitas y su montaje en HC. Las especies dominantes de macrófitas cambian de localidad en localidad, pero diversos géneros como *Phragmites* spp., *Thypha* spp., y *Scirpus* spp. son comunes en diversas condiciones de temperatura. Los siguientes requerimientos en una planta son deseables para ser considerada para su uso en estos sistemas:

- a) Adaptabilidad ecológica.
- b) Tolerancia a condiciones locales en términos de clima y plagas.
- c) Tolerancia a contaminantes.
- d) Resiliencia a condiciones hipertróficas de inundación.

- e) Rápida propagación, establecimiento, extensión y crecimiento.
- f) Alta capacidad de remoción del contaminante.
- g) Asimilación directa.

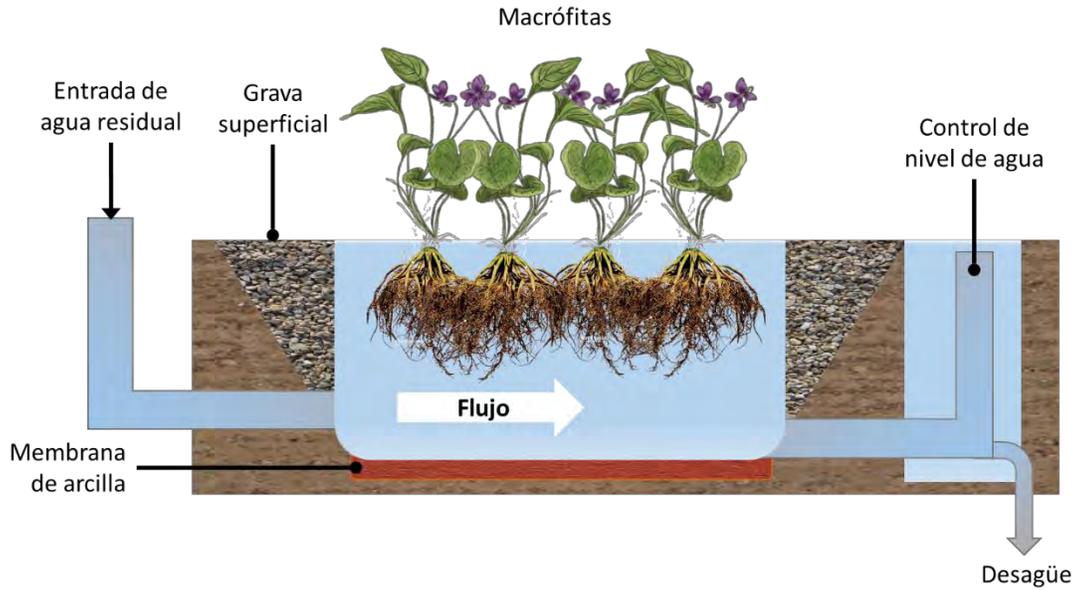


Figura 5. Esquema de un sistema de humedal construido de flujo superficial horizontal. Adaptado de Ansari, 2015.

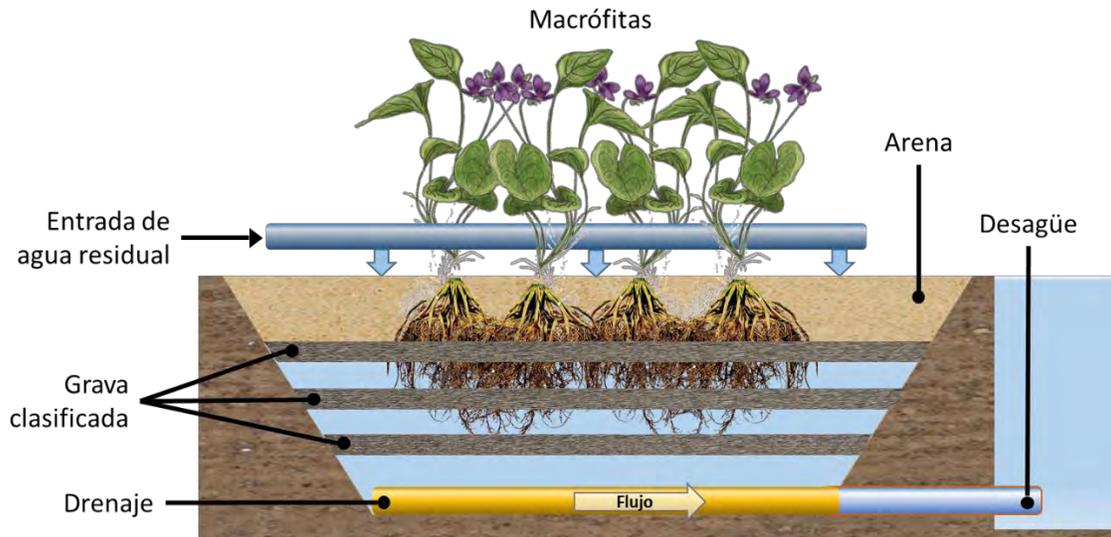


Figura 6. Esquema de un sistema de humedal construido de flujo sub-superficial vertical. Adaptado de Ansari, 2015.

Capítulo 2. Materiales y métodos

2.1. Elección de elementos de fitorremediación

Tanto el sitio de obtención de la planta fitorremediadora como la elección del contaminante a remediar, se basaron en los estudios de Martínez (2017), quien reportó mediciones de metales pesados en la zona de la laguna de La Mancha, Veracruz.

Dentro del CICOLMA se ha dedicado un sitio de restauración que corresponde a un popal (humedal emergente herbáceo de agua dulce), que había sido invadido por zacate alemán (*E. pyramidalis*). Esta área se ubica entre 96°23'E, 19°36'N, y 96°22'E, 19°33'N (Moreno-Casasola, 2010). Fue la florística de esta zona en la que se basó la elección de la planta fitorremediadora, y que además corresponde a la del sitio Ramsar de La Mancha.

2.1.1. Contaminante y condiciones de la fitorremediación

Se eligió el plomo como contaminante a usar en el sistema fitorremediador. La tabla 6 muestra los valores más altos de concentración de los metales Pb, Cd y Hg analizados en el estudio de Martínez (2017). Tanto en las muestras de agua como en las de sedimento se aprecia que el Pb es el metal en mayor concentración, y el que potencialmente generaría un mayor impacto ambiental a la zona. En específico, el sitio de muestreo nombrado como P6 reporta un nivel de plomo en agua de 1.34 ppm, lo cual incumple con los niveles de plomo previstos en la NOM-001-SEMARNAT-1996 (Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales), que marca no más de 0.4mg/L como promedio diario, y no más de 0.2mg/L como promedio mensual, en aguas costeras y en aguas de suelos de humedales naturales. También está fuera del límite que marcan los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89 para la protección de la vida acuática, cuyo valor máximo permisible de Pb es de 0.006 mg/L para agua marina (en áreas costeras).

Para fines de la construcción del sistema fitorremediador, y con base en los datos fisicoquímicos reportados en la tabla 6 para el sitio P6, se eligió un nivel de concentración de plomo soluble (Pb^{2+}) de al menos 1.34mg/L. El sistema debe mantener una temperatura del medio acuoso entre 22.10°C y 28.10°C, para que sea representativo de la zona de La Mancha. Por último, el pH de trabajo debe oscilar por debajo de pH neutro, entre 6.40 y 6.85 (ligeramente ácido).

2.1.2. Planta fitorremediadora

La búsqueda de las especies de plantas con potencial fitorremediador se hizo por medio de información bibliográfica. Las características que se buscaron en estas especies de plantas son:

Tabla 6. Mediciones fisicoquímicas y de contenido de metales pesados en agua y sedimentos en los sitios con mayor concentración de Pb, Cd y Hg (Martínez, 2017). Se muestra también el punto de muestreo de *H. bonariensis* dentro del sitio de restauración. Coordenadas UTM (x,y) de los sitios en el mapa: P6 (774509,2165713); L2 (774775,2168088); Humedal (774709,2163758); L4 (774137,2166030); P8 (774461,2164757); Muestreo planta (774703, 2168633). * Dato único reportado (Martínez, 2017).



Mediciones en agua				
Metal	Sitio	Concentración (mg/L)	pH (mínimo-máximo)	Temperatura de agua superficial (°C) (mínima-máxima)
Pb	P6	1.34	6.40-6.85	22.10-28.10
Cd	P6	0.149	6.40-6.85	22.10-28.10
Hg	L2	0.0005	7.61*	28.82*

Mediciones en sedimento				
Metal	Sitio	Concentración (mg/kg)	pH (mínimo-máximo)	Temperatura de agua superficial (°C) (mínima-máxima)
Pb	Humedal	15.92	7.37-7.55	22.60-27.70
Cd	L4	1.59	7.80*	28.78*
Hg	P8	0.108	6.36-6.67	19.40-29.00

- a) Tiempo de crecimiento relativamente rápido, de días a no más de tres meses. Se evitaron árboles y arbustos.
- b) Mínimo o nulo uso comercial de la planta. A pesar de que muchas especies de plantas comercializadas, y que están en los listados florísticos de La Mancha, poseen estudios de tolerancia a metales pesados o incluso de fitorremediación, se prefirió excluir plantas comestibles (como *Portulaca oleracea*, verdolaga), o para uso en subproductos alimenticios o farmacéuticos (*Ricinus communis*, aceite de castor).
- c) Se prefirieron plantas con tolerancia al Pb o fitorremediación potencial de Pb documentada, y con factores de translocación mayores a 1.
- d) Se eligieron plantas representativas de la florística de la zona de La Mancha.

Con base en el listado florístico de la laguna de La Mancha (Moreno-Casasola, 2006), y los requerimientos mencionados arriba, se consideraron las siguientes cuatro especies de plantas con potencial fitorremediador (ver sus correspondientes imágenes en la figura 7):

- a) *Typha domingensis*. Sus nombres comunes incluyen tule y cola de gato. Pertenece a la familia Typhaceae. Es una hierba acuática, enraizada y emergente (Vibrans, 2009). Tiene un tiempo de crecimiento desde la semilla hasta plantón (planta joven lista para sembrarse en su lugar definitivo) de 110 días a 37.7°C en invernadero (USDA-NRCS, 2006), y alcanza hasta 2.5 m de altura en estado natural (CONABIO, 2012). Farrag et al. (2013) reportan un factor de translocación con valor de 2 con Pb para *T. domingensis* en muestreos realizados en un humedal de Arabia Saudita.
- b) *Mikania micrantha*. Sus nombres comunes incluyen bejuco de criatura, guaco y quiebra plato. Pertenece a la familia Asteraceae. Es una enredadera herbácea que alcanza 10 m de longitud (CONABIO). Zhang et al. (2004) reportan una tasa de crecimiento de *M. micrantha* de 5 a 45 cm por semana, a una temperatura óptima de germinación entre 25°C y 30°C. Mazumdar et al. (2015) reportan un factor de translocación de Pb de 1.9 para esta planta, en nuestras tomadas en un sitio contaminado del noreste de India.
- c) *Sagittaria lancifolia*. Sus nombres comunes incluyen lirio y cola de pato. Pertenece a la familia Alismataceae. Es una hierba perenne que alcanza los 2 m de altura (CONABIO). Gordon Collon et al. (1989) reportan una tasa de crecimiento de 2 cm por cada 17 días desde la semilla, a una temperatura de 25°C. Para esta planta no hay información disponible sobre factores de fitorremediación con Pb.



a) *Typha domingensis*

b) *Mikania micrantha*
(ejemplar del CICOLMA)

c) *Sagittaria lancifolia*

d) *Hydrocotyle bonariensis*
(crecida en CU, UNAM)

Figura 7. Especies de plantas representativas del sitio Ramsar La Mancha con potencial fitorremediador de Pb.

- d) *Hydrocotyle bonariensis*. Sus nombres comunes incluyen corona de santa, y *dollar weed* y *pennyworth* en inglés. Pertenece a la familia Apiaceae (CONABIO). *H. bonariensis* es una planta clonal con un crecimiento primordialmente a través de generación de ramets (Evans, 1988). Longstreth et al. (1981) mencionan una tasa de crecimiento desde la semilla de 40 cm en 15 días, a una temperatura entre 20°C y 26°C. Por otro lado, Mendoza et al. (2015) reportan un factor de translocación de Pb de hasta 1.2 para muestras de *H. bonariensis* recolectadas *in situ* en la cuenca de los ríos Matanza y Riachuelo, Argentina.

De modo que estas cuatro especies cumplieron en grados distintos los requisitos previamente propuestos para la elección de la planta fitorremediadora. Por ejemplo, todas son especies que se encuentran descritas en la zona Ramsar de La Mancha. A excepción de *S. lancifolia*, existen datos bibliográficos que describen la potencial capacidad fitorremediadora contra el Pb, aunque acotados solamente a muestreos *in situ*. El tiempo de germinación y desarrollo va desde los más rápidos para *H. bonariensis* (25 cm por semana) y *M. micrantha* (5 a 45 cm por semana), hasta los más lentos, 2 cm en 17 días para *S. lancifolia*, y los 110 días que requiere *T. domingensis* para llegar a ser una planta joven. Por último, tres de las cuatro especies propuestas requieren un crecimiento a partir de semilla, lo cual involucra un proceso de germinación antes del desarrollo completo de la planta para fines de fitorremediación. Tal no es el caso de *H. bonariensis*, que crece de modo clonal y no requiere una reproducción sexual (por medio de flores y semillas) para su desarrollo. Es decir, se requieren solamente ramets que den paso a nuevos nódulos a través de un crecimiento longitudinal. Por lo tanto, *Hydrocotyle bonariensis* cumple con los requerimientos propuestos para ser usada como planta en un proceso de fitorremediación, con base en su rápido crecimiento, un factor de translocación de 1.2 reportado, en que es una especie representativa del sitio Ramsar de La Mancha, y su reproducción no requiere inversión de un proceso de obtención de semillas ni de germinación.

2.2. Muestreo de las plantas

El 21 de enero de 2016 se llevó a cabo un muestreo en La Mancha, Veracruz. El lugar de obtención de las plantas corresponde al sitio nombrado "Muestreo planta" en el mapa de la tabla 6. Tal ubicación corresponde al sitio de restauración del CICOLMA. Se recolectaron manualmente 35 genets de *H. bonariensis*; cada uno contenía entre 2 y 4 ramets (nódulos). Se procuró que cada nódulo tuviera por lo menos sistema de raíces y su propia hoja. Los genets de *H. bonariensis* fueron sembrados temporalmente (solo para su trasportación) en arena de la costa de La Mancha, que fue lavada tres veces con agua potable, y lavada una cuarta vez con una solución nutritiva hidropónica

de concentración original (2.29 g/L). El mismo día fueron trasladados al Laboratorio de Costas y Puertos del Instituto de Ingeniería en Ciudad Universitaria, UNAM, Ciudad de México.

2.3. Crecimiento de plantas

Se construyeron incubadoras de crecimiento para los ramets de *H. bonariensis*. Se hicieron dos tipos de incubadoras, uno para la aclimatación de las plantas muestreadas en campo, y un segundo para la propagación de las mismas. La única diferencia entre los dos tipos de incubadora radica en cómo fueron plantados los ramets dentro de los contenedores de plantas, diferencia que se explica más adelante. Primeramente se describirán los componentes y condiciones en común entre ambos tipos de incubadora, y después se especificarán las características de cada una.

2.3.1. Componentes de las incubadoras

En la figura 8 se muestra la instalación general de una incubadora de crecimiento de *H. bonariensis*. La incubadora contó con una fuente luminosa de dos focos fluorescentes de luz blanca (Longstreth et al., 1981) de 23 W, marca Great Value Terra, en forma de espiral. La distancia de separación entre la base de los focos hasta la superficie del sustrato de las plantas fue de 40 cm. El sistema de iluminación dio 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad; es decir, se prendía a las 06:30 am y se apagaba a las 06:30 pm automáticamente por medio de un contacto programable (marca Defiant, #468-952). La incubadora posee una protección transparente de plástico cristal para minimizar la entrada de fauna nociva y partículas suspendidas hacia las plantas. El soporte de la tapa que sostiene el sistema de iluminación, y por medio del cual se ajustaba la altura de los focos, lo constituyeron cuatro varillas roscadas, que se introdujeron en las esquinas del contenedor de las plantas en crecimiento, y que fueron afianzadas con tuercas y rondanas. El sistema de calentamiento lo constituye un baño de agua dentro del cual se sumergió el contenedor de plantas en crecimiento. En el fondo de este baño se ubicó una resistencia para acuario marca Lomas Eco Thermal de 50 W, cuyo termostato mantenía el agua de calentamiento a una temperatura constante, y que a su vez mantenía el sustrato de las plantas a una temperatura estable. Estas incubadoras no poseen un sistema de control de temperatura ambiente. Al agua de calentamiento se le adicionaba cada mes y en cada cambio de agua, 1 ml de tratamiento preventivo de patógenos marca AZOO para peceras, para evitar crecimiento microbiano en la superficie de la resistencia de calentamiento, y que esta forzara su trabajo. Cada cuatro meses el agua de calentamiento era reemplazada por agua totalmente nueva. Se aseguró que ningún elemento metálico estuviera en contacto directo con las plantas ni su sustrato. El material de los contenedores de las plantas en crecimiento y del baño de agua de calentamiento es de polipropileno (PP #05). Las dimensiones del contenedor de plantas en

crecimiento es de 51 cm de largo, 37.5 cm de ancho y 23.5 cm de profundidad. Finalmente, a las incubadoras no se les instaló ningún control ni medidor de humedad ambiental.

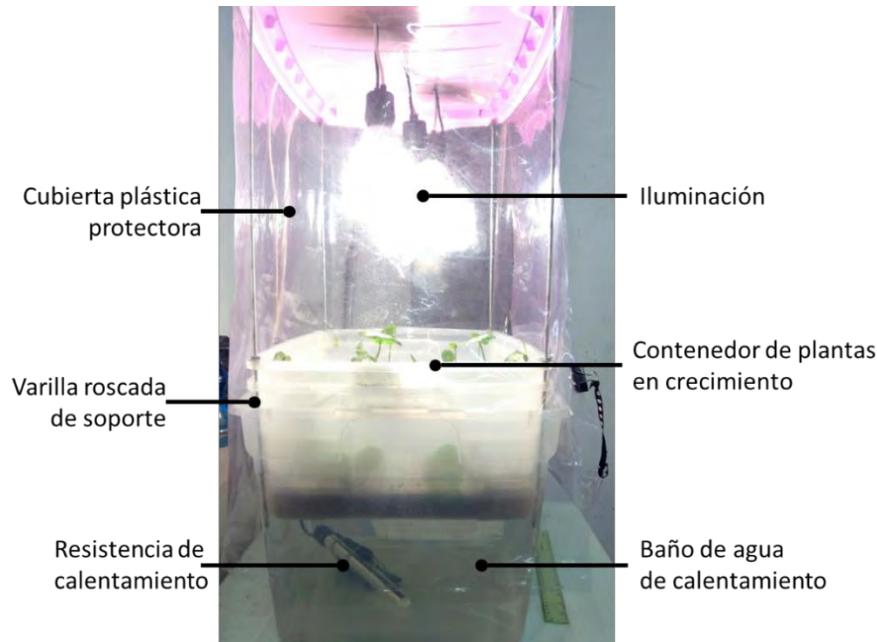


Figura 8. Elementos principales de las incubadoras de crecimiento para *H. bonariensis*. Vista lateral.

2.3.2. Incubadora de aclimatación e incubadoras de propagación

En la incubadora de aclimatación se plantaron los genets de *H. bonariensis* recién colectados en campo, donde estuvieron 1 mes antes de ser trasplantados en las incubadoras de propagación. En la etapa de aclimatación, el sustrato cubrió toda la base interna del contenedor de plantas en crecimiento, tal como se observa en la figura 7, inciso d. De esta manera las plantas pudieron alargar su rizoma, y generar nuevos sistemas de raíces y hojas.

Por otro lado, la fase de propagación consistió en hacer crecer los genets de forma independiente dentro de tubos de PVC (ver figura 9). Esta acción permitió a los ramets de *H. bonariensis* desarrollarse en sentido longitudinal, y que fuera más fácil trasplantarlas al sistema de fitorremediación. También se montaron mallas divisorias entre cada tubo para evitar el enredamiento de tallos y hojas. Se observó que el crecimiento inicial de los tallos de *H. bonariensis* es vertical en dirección a la fuente luminosa. Pero al alcanzar aproximadamente 15 cm de longitud, el tallo se inclina por el peso de su propia hoja, o por manipulación humana (por ejemplo, al introducir el termómetro a la incubadora). Así, la hoja cae a nivel del sustrato, pero eventualmente vuelve a crecer en dirección vertical. Estas caídas son las que van provocando enredamiento entre

los mismos tallos, y que al tratar de separarlos, se puedan romper y se pierda la hoja por marchitamiento.



Figura 9. Interior de una incubadora de propagación de *H. bonariensis*.

Los tubos de PVC fueron de 3 pulgadas de diámetro, con una longitud total de 48 cm (incluyendo las tapas). En los extremos de los tubos se montaron tapas y coples. Todas las piezas fueron unidas con pegamento para tubería de PVC, y selladas con silicón blanco para evitar fugas de solución nutritiva y agua. Cada tubo fue identificado con un número para permitir trazabilidad de las mediciones.

2.3.3. Temperatura, pH y características de las plantas en las incubadoras

La temperatura de las incubadoras se midió manualmente con un termómetro de alcohol (marca Duve), cuyo uso fue dedicado únicamente a las incubadoras. Las mediciones se hicieron durante días hábiles (generalmente de lunes a viernes), al menos una vez al día, y máximo dos veces al día (en la mañana y en la tarde). Se midió la temperatura del sustrato, y la temperatura ambiental. Para la medición en sustrato se introducía directamente el termómetro al mismo, y se dejaba estabilizar 60 segundos. En la incubadora de aclimatación se hacía una sola medición de temperatura de sustrato. En las dos incubadoras de propagación que se construyeron, se medía la temperatura en el sustrato de cada uno de los tres tubos de PVC. La temperatura ambiental se medía con un gancho atado a la tapa de focos, donde se dejaba colgando el termómetro 60 segundos para después tomar la medición. En la tabla 7 se condensan los resultados de los promedios de las mediciones de temperatura.

Con respecto al pH, este se medía directamente en el sustrato por medio de tiras medidoras de pH (marca Nuevo) con rango de 0 a 14. Las mediciones se realizaban lunes, miércoles y viernes, una vez al día. En la incubadora de aclimatación se hacía una sola medición de pH de sustrato. En las dos incubadoras de propagación se medía el pH en el sustrato de cada uno de los tres tubos de PVC. En la tabla 7 se condensan los resultados de los promedios de las mediciones de pH.

Tabla 7. Promedios de temperatura y pH medidos en las incubadoras. N/A=No aplica.

Incubadora y Periodo de medición	Punto de medición	Temperatura (°C)	pH
Aclimatación 22enero2016-13ene2017	Ambiente	22.6	N/A
	Sustrato	24.7	6.5
Propagación 1 23febrero2016-13ene2017	Ambiente	23.5	N/A
	Sustrato Tubo 1	25.1	6.5
	Sustrato Tubo 2	24.8	6.6
	Sustrato Tubo 3	25.0	6.5
Propagación 2 23febrero2016-13ene2017	Ambiente	23.3	N/A
	Sustrato Tubo 1	25.0	6.5
	Sustrato Tubo 2	24.8	6.6
	Sustrato Tubo 3	25.0	6.5

De acuerdo con la tabla 7, los sistemas de incubación pudieron reproducir las condiciones de temperatura y pH medidos en el sitio de muestreo P6 (ver tabla 6), y que también son las condiciones elegidas para realizar fitorremediación con *H. bonariensis*. En este caso se está haciendo un símil de la temperatura de agua superficial reportada para el sitio P6, con la temperatura del sustrato en las incubadoras. Cabe aclarar que dentro del Laboratorio de Costas y Puertos no se cuenta con un control de la temperatura ambiental ni de humedad, aunque el lugar es cerrado a la intemperie, incluyendo a la luz de sol.

Se hizo un seguimiento cotidiano de las características físicas de las plantas y de la aparición de organismos nocivos para las mismas. Se observaba la apariencia del sustrato (en caso de requerir riego), las características predominantes de las plantas (color, firmeza, etc.), presencia de plaga en hojas o sustrato, y el estado general de las incubadoras. Con esto se aseguró el buen desempeño de las incubadoras para el desarrollo de *H. bonariensis*. Durante los periodos de medición mencionados en la tabla 7 para cada incubadora, no se detectaron plagas en las plantas, ni estas cambiaron sus características físicas con evidencia de un mal desarrollo.

Tanto las mediciones de temperatura y pH, como la revisión cotidiana de las plantas y las incubadoras, fueron registradas en bitácoras usando los formatos del Anexo 1 (aclimatación) y el Anexo 2 (propagación).

2.4. Solución nutritiva y riego

Tanto en los dos tipos de incubadoras como en el sistema fitorremediador, las plantas crecieron en un sustrato (perlita) que no contribuía con ningún nutriente. Los nutrientes fueron aportados a las plantas de manera hidropónica (Hoagland et al., 1950). Éstos fueron adquiridos en forma sólida y con calidad para uso agrícola, en el Taller de Hidroponía de la Facultad de Ciencias de la UNAM, Atlamehualco, en Ciudad Universitaria. Cada nutriente fue adquirido y resguardado de forma individual y sin mezclarlos. Cada nutriente se guardó en un frasco de vidrio con tapa hermética, protegido de la luz. Se hizo una pre-mezcla de polvos con los reactivos y proporciones marcados en la tabla 8. La pre-mezcla incluyó MgSO₄*7H₂O, KNO₃, ácido cítrico, STEM, EDDHA-Fe. Tal pre-mezcla fue resguardada de la misma manera que los nutrientes individuales.

Tabla 8. Composición de los dos tipos de solución nutritiva empleadas.

Compuesto (Marca o identificador comercial)		Proporciones para solución original (gramos por 1 L de solución nutritiva)	Proporciones para solución diluida 7 veces (gramos por cada 50 L de solución nutritiva)
Pre-mezcla	Sulfato de magnesio [MgSO ₄ *7H ₂ O] (Peñoles Sal Epsom Sulmag)	0.50	3.57
	Nitrato de potasio [KNO ₃] (Ultrasol NKS 46)	0.45	3.21
	Ácido cítrico anhidro (BP/USP/FCC/E330)	0.08	0.57
	STEM (Micronutrientes) (Soluble Trace Element Mix, Peters professional)	0.03	0.21
	EDDHA-Fe (Ultrasol micro Rexene Fe Q48)	0.01	0.07
	<i>Subtotal a pesar</i>	1.07	7.63
Nitrato de calcio [Ca(NO ₃) ₂] (Yara Liva Calcinit)		1.00	7.14
Fosfato monopotásico [KH ₂ PO ₄] (Ultrasol MKP 0-25-34)		0.22	1.57
<i>Total a pesar</i>		2.29	16.34

La preparación de los nutrientes comenzaba con pesar la cantidad sólida requerida de pre-mezcla por cada litro de solución nutritiva necesario. Después se adicionaba la cantidad correspondiente de $Ca(NO_3)_2$, y, de ser necesario, también se añadía la cantidad debida de KH_2PO_4 . Estos polvos se mezclaban en agua destilada tipo II, hasta su total disolución. En ocasiones quedaban pocas partículas blancas insolubles en el fondo de la solución nutritiva, que muy probablemente eran compuestos generados por la exposición de los nutrientes al ambiente, como carbonatos, que ya no lograban una dilución completa. Esto no representó un impacto al desarrollo de las plantas, y se continuó con la aplicación de los nutrientes de esta forma. Una vez realizada la solución nutritiva, se medía el pH de esta con una tira de papel indicador. Se aseguraba que el pH resultante estuviera siempre en 6 antes de entrar en contacto con las plantas.

Para el caso de los dos tipos de incubadoras, la adición de solución nutritiva era semanal. A la incubadora de aclimatación se añadía 1 L de solución nutritiva, mientras que a cada tubo de PVC en las incubadoras de propagación se adicionaban alrededor de 500 ml. La mezcla que se preparaba para estas aplicaciones era la solución original descrita en la tabla 8 (2.29 g/L). En el sistema fitorremediador la solución nutritiva se preparaba en el tanque reservorio, y a lo largo del tiempo de la corrida de fitorremediación no se añadían más nutrientes. Para las pruebas de fitorremediación se usó la solución diluida siete veces, descrita en la tabla 8.

Tal como se detallará en la sección de resultados, también se aplicó fertilizante GroGreen a las plantas. GroGreen también fue adquirido en el Taller de Hidroponia de Ciudad Universitaria. Este contiene 30% en peso de fuente de fósforo en forma de óxido de fósforo (V) (P_2O_5), y se aplica foliarmente, por medio de aspersiones de una solución de GroGreen directo sobre las hojas de la planta. Para el caso de los dos tipos de incubadoras, este tratamiento comenzó tres semanas antes de transferir los genets de *H. bonariensis* al módulo fitorremediador. Esto implicó modificar la fórmula de solución nutritiva, eliminando de ella KH_2PO_4 , pero siguiendo la misma metodología de disolución y aplicación. En cuanto a la preparación de GroGreen, que también se encuentra en forma sólida, se hacía una solución de 2 g/L de este, y se aplicaban 5 atomizaciones de tal mezcla por cada tubo de PVC con plantas dentro de la incubadora. La aplicación de GroGreen en los dos tipos de incubadoras se hacía semanalmente, el mismo día de la adición de solución nutritiva sin KH_2PO_4 . La solución recién preparada de GroGreen servía para dos semanas, es decir, dos aplicaciones semanales. En la tercera semana se hacía nueva solución de GroGreen.

Los requerimientos de riego de las plantas se presentaban entre cada adición de nutrientes, con una frecuencia entre dos y tres días. El agua empleada para tales fines era agua destilada tipo II. A cada tubo de PVC se adicionaban 500 ml de agua, y a la incubadora de aclimatación 600 ml.

2.5. Acondicionamiento del sustrato (Agrolita)

El sustrato utilizado tanto en los módulos de incubación como en el de fitorremediación fue agrolita (perlita). Esta fue adquirida en el Taller de Hidroponia de Ciudad Universitaria. La agrolita es un material volcánico que tuvo un proceso de calentamiento a $850^{\circ}C$. Esto crea dentro de ella pequeños túneles donde penetra el aire y líquidos. Esta porosidad permite resguardar la humedad, el oxígeno y los nutrientes en las raíces de las plantas (The Perlite Institute, 2005). De acuerdo con su ficha técnica (Agrolita de México, S.A. de C.V.) la agrolita posee una densidad real de 0.35 g/cm^3 ; un espacio poroso de 34 a 65% (% vol); un pH de 6.5 a 7.5. Su composición es inorgánica, e incluye SiO_2 (75.30%), Al_2O_3 (13.92%), Fe_2O_3 (0.51%), Na_2O (4.98%), K_2O (4.58%), CaO (0.62%), otros (0.09%).

Durante las primeras manipulaciones de la agrolita se notó una heterogeneidad del tamaño de partículas que la componen, en especial el contenido de polvo del material. Se hizo un análisis granulométrico por medio de tamizado en el Laboratorio de Costas y Puertos, con el cual se dedujo que contiene 11% de finos (partículas menores a la malla de $100 \mu\text{m}$). Con base en esto a toda la agrolita empleada en el proceso de fitorremediación se le retiraron las partículas finas por medio de tamizado. Así solo se emplearon las fracciones mayores a la malla de $100 \mu\text{m}$ para plantar *H. bonariensis*. Con esto se evitó el paso de partículas del sustrato al seno de la solución nutritiva de fitorremediación, y que quedaran suspendidas afectando a su paso la bomba de recirculación. En cuanto al sustrato usado en las tres incubadoras, la agrolita no fue tamizada, ya que el medio en los tubos de PVC es estático.

A la agrolita tamizada se le hizo un análisis de contenido de $Pb(II)$ para conocer si tendría algún aporte de este metal durante las pruebas de fitorremediación. El resultado del análisis de $Pb(II)$ fue no detectable (menor a 0.1 mg/kg). Con base en esto, en los cálculos posteriores que involucraron agrolita tamizada, se consideró un nulo aporte de $Pb(II)$ por parte de este sustrato.

Por último, en la parte de resultados de elección de sustrato, la fibra de coco empleada en esta prueba también fue adquirida en el Taller de Hidroponia de Ciudad Universitaria.

2.6. Sistema fitorremediador

En la figura 10 se muestran los componentes generales del sistema de fitorremediador construido. Este sistema cuenta con dos secciones principales: la primera, en el nivel alto, fue denominada

módulo de fitorremediación; la segunda sección se llamó *reservorio*, que es un tanque situado a nivel de piso. Ambas secciones están unidas por tuberías, que crean una recirculación del líquido puesto en el reservorio (en la figura 10, ver *retorno al reservorio*, y *salida del reservorio*).

2.6.1. Módulo de fitorremediación

En el módulo de fitorremediación se replicaron las condiciones de crecimiento implementadas en las incubadoras, para lo cual se usaron las mismas marcas de componentes. A continuación se enlistan tales réplicas, especificando algunas diferencias:

- La fuente luminosa fue de dos focos fluorescentes de luz blanca de 23 W en forma de espiral. La distancia de separación entre la base de los focos hasta la superficie del sustrato de las plantas fue de 40 cm.
- El sistema de iluminación dio 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con un apagado y encendido automático.
- Protección transparente de plástico.
- El soporte de la tapa que sostiene el sistema de iluminación lo constituyeron cuatro varillas roscadas.

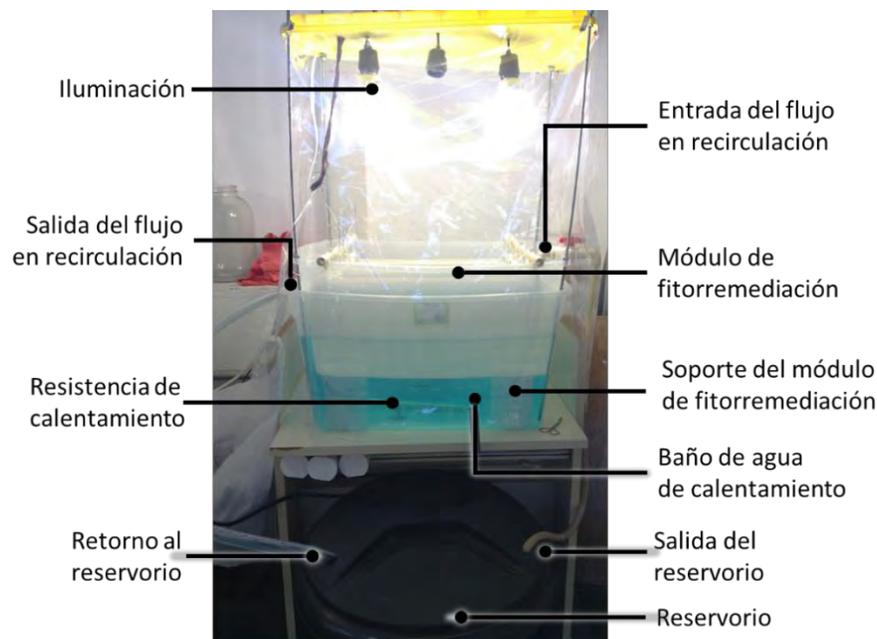
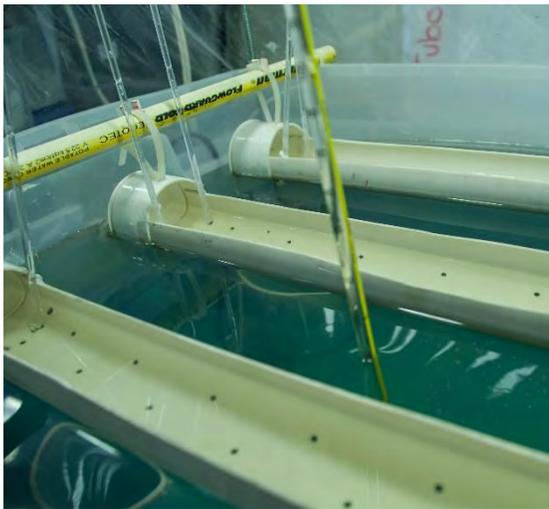


Figura 10. Elementos principales del sistema de fitorremediación.

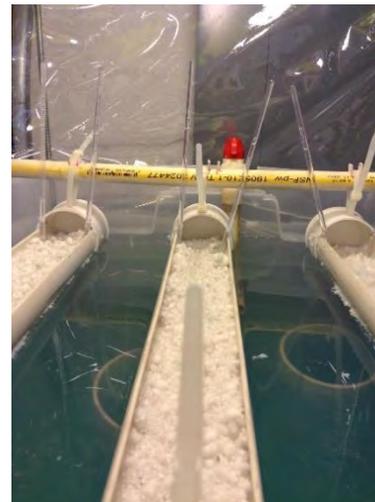
- El sistema de calentamiento lo constituyó un baño de agua dentro del cual se sumergió el módulo de fitorremediación. En el fondo de este recipiente se ubicó una resistencia de

pecera de 150 W. Al agua de calentamiento también se adicionó tratamiento preventivo de patógenos para peceras. Debido al peso adicional del módulo, ya que tiene un aforo para mantener dentro de sí mismo aproximadamente 24 L de solución, se pusieron cuatro soportes de forma cilíndrica (uno en cada esquina) hechos a partir de tubería de PVC, para evitar el hundimiento del módulo de fitorremediación en el baño de calentamiento.

- b) Se aseguró que ningún elemento metálico estuviera en contacto directo con las plantas, el seno del líquido en el módulo de fitorremediación ni con el sustrato de las plantas.
- c) El material del módulo de fitorremediación y del baño de agua de calentamiento fue de polipropileno (PP #05).
- d) Las dimensiones del contenedor del módulo de fitorremediación es de 51 cm de largo, 37.5 cm de ancho y 23.5 cm de profundidad.
- e) Tampoco se instaló ningún control ni medidor de humedad ambiental.
- f) Todas las piezas fueron unidas con pegamento para tubería de PVC, y selladas con silicón blanco



a) Tubos de PVC sin sustrato.



b) Tubos de PVC con sustrato.

Figura 11. Líneas de soporte para *H. bonariensis* dentro del módulo de fitorremediación.

En el interior del módulo de fitorremediación se instalaron tres líneas de tubos de PVC (diámetro 2 pulgadas; longitud 43.5 cm), tal como lo muestra la figura 11. Estas líneas están suspendidas en la superficie del espejo de agua, por medio de un travesaño del cual cuelgan cinchos de plástico ajustables, unidos a los tubos de PVC. Los cinchos permiten regular la profundidad a la que llegan las bases de los tubos de PVC dentro del seno del agua. En la base de los tubos se hicieron orificios

de 3 mm de diámetro, en una trama triangular, y distancias radiales de orificio a orificio de 3.5 cm (figura 11, inciso a). Estos orificios tienen la función de dejar permear el agua exterior hacia el sustrato dentro del tubo, y que la agrolita se mantenga siempre hidratada (figura 11, inciso b). Con el fin de tener trazabilidad, cada tubo de PVC estuvo identificado con un número distinto.

2.6.2. Reservorio y sistema de recirculación

El reservorio tuvo la función de contener y distribuir todo el líquido introducido al sistema. El reservorio consta de un tanque en cuyo interior (ver figura 12, inciso a) se hizo una escala de volumen, con una graduación de división mínima de 1 L, y un aforo máximo de 52 L. La graduación se hizo manualmente por duplicado. El reservorio cuenta con una tapa a través de la cual pasan las tuberías de recirculación y la conexión eléctrica de la bomba.



a) Vista interior del reservorio.



b) Codo de entrada del flujo en recirculación.

Figura 12. Imágenes del reservorio y sus componentes.

En el reservorio se situó una bomba sumergible (marca Lawn industry, modelo QP-750) que impulsa el líquido hacia el módulo de fitorremediación a través de una manguera de látex (113 cm de longitud, 1 cm de diámetro interno), unida a un codo de PVC (1.5 cm de diámetro) que se muestra en la figura 12, inciso b. El extremo de la salida del agua de este codo está introducido en el módulo de fitorremediación, y es el conducto con el cual el módulo se llena de líquido. Una vez que el nivel líquido alcanzó la base de los tubos de PVC colgantes, el agua comienza a fluir por gravedad a través de una salida en el lado opuesto de donde se montó el codo de entrada (ver figura 10). A tal salida

del flujo en recirculación está unida una manguera plástica de 136 cm de longitud y 1.5 pulgadas de diámetro, que conduce de vuelta al líquido dentro del reservorio (ver figura 12, inciso a).

La velocidad a la que sale el líquido del codo, es decir, la velocidad a la que entra al módulo de fitorremediación, se calculó aforando la bomba de recirculación. Por triplicado se midió el tiempo que tardó la bomba en transportar 3 L de agua potable a través de la manguera de látex y el codo. De esta forma se obtuvo el gasto en m³/s. El área transversal de la salida del tubo del codo es de 1.77x10⁻³m². Haciendo el cociente del gasto con el área transversal, se obtuvo una velocidad de salida de 0.28 m/s. Esta velocidad se obtuvo con la bomba 100% abierta, ya que esta posee una perilla para regular su gasto. La velocidad calculada de 0.28 m/s está acorde con las velocidades reportadas por Chávez et al. (2016) para diversas zonas de la zona de La Mancha, como manantiales, manglar y humedal. Sus datos van desde 0.055 m/s hasta 0.52 m/s, por lo que las condiciones a las que se usa la bomba en el sistema fitorremediador corresponden al rango de las características de flujo de la laguna de La Mancha, como un cuerpo de agua semicerrado.

2.6.3. Temperatura, pH y características de las plantas en el sistema fitorremediador

La temperatura de las incubadoras se midió manualmente con un termómetro de mercurio (marca SAMA), cuyo uso fue dedicado únicamente al sistema fitorremediador. Las mediciones se hicieron durante días hábiles (generalmente de lunes a viernes), al menos una vez al día, y máximo dos veces al día (en la mañana y en la tarde). Se midió la temperatura del sustrato en cada uno de los tres tubos de PVC, la temperatura ambiental, y la temperatura en centro geométrico del seno del módulo de fitorremediación. En cada medición se dejaba estabilizar el termómetro al menos 60 s. Para la medición de temperatura en sustrato y el seno del agua se introducía directamente el termómetro al mismo, y la temperatura ambiental se medía con un gancho atado a la tapa de focos donde se dejaba colgando el termómetro para su estabilización.

Con respecto al pH, se medía directamente en el sustrato de los tres tubos, y en el centro geométrico del seno del módulo de fitorremediación, por medio de tiras medidoras de pH (marca Nuevo), de un rango de 0 a 14. Las mediciones se realizaban cotidianamente, una vez al día, en días hábiles.

Se hizo un seguimiento de las características físicas de las plantas y de la aparición de organismos nocivos para las mismas. Se observaban las características predominantes de *H. bonariensis* (color, firmeza, etc.), presencia de plaga en hojas o sustrato, y el estado general del sistema fitorremediador. Durante las corridas de fitorremediación no se detectaron plagas en las plantas, ni cambios en sus características físicas con evidencia de un mal desarrollo.

Tanto las mediciones de temperatura y pH, como la revisión cotidiana de las plantas y el sistema fitorremediador, fueron registradas en bitácoras usando el formato del Anexo 3.

2.7. Modelación de componentes en fase acuosa

Se usó el software MINEQL versión 4.5. El sistema se dejó abierto a la atmósfera, introduciendo una presión parcial de CO₂ igual a log P CO₂ = -3.5. Las concentraciones molares de la forma iónica de los nutrientes y del Pb²⁺ (contemplado en la forma Pb(NO₃)₂) introducidas a MINEQL se muestran en la tabla 9. Estos cálculos se basaron en las proporciones de nutrientes para una solución diluida 7 veces (tabla 8).

Tabla 9. Concentraciones totales de componentes iónicos usados en el programa MINEQL.

Componente	Modelo con 8.74 ppm de Pb ²⁺ (mol/L)	Modelo con 2.46 ppm de Pb ²⁺ (mol/L)
Pb ²⁺	10 ^{-4.39}	10 ^{-4.66}
H ₂ PO ₄ ⁻	10 ^{-3.64}	0.0
K ⁺	10 ^{-3.06}	10 ^{-3.20}
NO ₃ ⁻	10 ^{-2.61}	10 ^{-2.62}
Ca ²⁺	10 ^{-3.06}	10 ^{-3.06}
Mg ²⁺	10 ^{-3.54}	10 ^{-3.54}
SO ₄ ²⁻	10 ^{-3.54}	10 ^{-3.54}
C ₆ H ₅ O ₇ ³⁻ (Citrato)	10 ^{-4.23}	10 ^{-4.23}
Fe ³⁺	10 ^{-6.71}	10 ^{-6.71}
Na ⁺	10 ^{-6.71}	10 ^{-6.71}

2.8. Montaje de blancos

Desde una noche antes, la resistencia de calentamiento se encendió para tener estable la temperatura del agua de calentamiento el día de la corrida del blanco. Las tres líneas de tubos de PVC, la cobertura plástica y el codo de entrada del flujo en recirculación se dejaron montados. El sistema de iluminación también se dejó en funcionamiento. Para la ejecución de los blancos no se puso sustrato ni se colocaron plantas en las líneas de tubos de PVC.

El día de la corrida en el reservorio de prepararon 50 L de solución nutritiva diluida 7 veces, y se le adicionaron 5 ml de ácido acético glacial 0.01 mM para mantener pH en un rango alrededor de 6. Esta mezcla fue muestreada para análisis contenido de Pb²⁺. Después al reservorio se le agregó solución stock de 4.99 g/100 ml de Pb(NO₃)₂ (J.T.Baker, 100.4%, en cristales, lote P40C61), que fue mezclada durante 5 minutos con ayuda de un tubo de PVC. Esta solución stock se usó en ambas

corridas de blancos. La solución nutritiva contaminada también fue muestreada para análisis de contenido de Pb^{2+} .

La bomba fue sumergida en el reservorio. Se conectaron las conexiones de la tubería de látex (salida del reservorio) y la del retorno al reservorio. Finalmente la bomba se puso en marcha.

Se supervisó el llenado del módulo de fitorremediación hasta su aforo y retorno del líquido al reservorio. Se verificó que no existieran fugas en juntas de tuberías y los conductos. Se aseguró que los orificios de las líneas de tubos de PVC estuvieran sumergidos en el seno del agua, realizando ajustes de altura con los cinchos de plástico.

Como medida de seguridad en todo momento del montaje se usaron guantes de látex.

2.9. Montaje de corridas de fitorremediación con *H. bonariensis*

Desde una noche antes la resistencia de calentamiento se encendió para tener estable la temperatura del agua de calentamiento el día de la corrida del blanco. Las tres líneas de tubos de PVC, la cobertura plástica y el codo de entrada del flujo en recirculación se dejaron montados. El sistema de iluminación también se dejó en funcionamiento.

El día de la corrida, en el reservorio de prepararon 50 L de solución nutritiva diluida 7 veces, y se le adicionaron 5 ml de ácido acético glacial 0.01 mM para mantener pH en un rango alrededor de 6. Esta mezcla fue muestreada para análisis de contenido de Pb^{2+} . Después, al reservorio se le agregó solución stock de 10.0 g/100 ml de $Pb(NO_3)_2$ (J.T.Baker, 100.4%, en cristales, lote P40C61), que fue mezclada durante 5 minutos con ayuda de un tubo de PVC. El cambio de concentración de solución stock fue por motivos de seguridad, ya que con esto se disminuyó el tiempo de manipulación del $Pb(NO_3)_2$ al agregarlo con pipeta al reservorio. Esta solución stock se usó en ambas corridas de fitorremediación reportadas en esta tesis.

Enseguida a cada línea de tubo de PVC se agregaron 40 g de agrolita tamizada. Después la bomba fue sumergida en el reservorio. Se conectaron las conexiones de la tubería de látex (salida del reservorio) y la del retorno al reservorio. Finalmente la bomba se puso en marcha.

Se supervisó el llenado del módulo de fitorremediación hasta su aforo y retorno del líquido al reservorio. Se verificó que no existieran fugas en juntas de tuberías y los conductos. Se aseguró que entrara líquido a las bases de las líneas de tubos de PVC, y que el sustrato estuviera completamente inundado.

Posteriormente se sacaron los genets de *H. bonariensis* de las incubadoras de propagación. En todo momento se procuró no trozar tallos, hojas ni raíces. Sobre una charola de plástico se vació el contenido del tubo de propagación, que incluyó los genets y su sustrato. A los rizomas se les retiró

la mayor cantidad posible de sustrato con un enjuague de agua destilada tipo II usando una piseta, y se secó el excedente de líquido con una toalla de papel. De estos genets se muestrearon al menos 10 g de rizoma (incluyendo nódulos con raíces), y 10 g de tallos con hojas para análisis de contenido de Pb(II). Para fines del contenido de Pb(II) inicial, se usó el extremo del rizoma opuesto al ápice. Con esto se aseguró que *H. bonariensis* tendría tejido en desarrollo (a nivel de rizoma) al ser transferida al sistema fitorremediador. Así, el remanente de la planta fue puesto en el sustrato de las líneas de tubo del módulo de fitorremediación, introduciendo completamente las raíces a la agrolita. Al trasplantar *H. bonariensis* se respetó la numeración correspondiente entre los tubos en incubación y los del módulo de fitorremediación.

2.10. Intensidad de luz

Con un medidor de luz LI-COR (modelo Quantum, Número de serie 101250) y su respectivo *data logger* (modelo LI-1400) (figura 13, inciso c), se realizaron mediciones de intensidad de luz dentro de las incubadoras y el módulo de fitorremediación. Los resultados de estas mediciones se encuentran en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de mediciones de intensidad de luz.

Módulo	Intensidad de luz ($\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$)
Incubadora de aclimatación	21.05
Incubadora de propagación 1	52.81
Incubadora de propagación 2	49.88
Módulo de fitorremediación	28.67

En la figura 13 se muestra la disposición del medidor de luz LI-COR dentro de las incubadoras (inciso a), y del módulo de fitorremediación (inciso b).

El medidor se ubicó en el centro geométrico de cada módulo. Se usó una superficie plana como soporte, y hojas de papel para centrar la burbuja de nivel. Primeramente el medidor se conectó al *data logger* en el puerto número 1 y se oprimió el botón *On/Off*. Después, se eligió la opción *Log-in*, y con las flechas se llegó hasta la opción *On*, que fue seleccionada con el botón *Enter*. Por último, se presionó el botón *View data*, y se eligió la opción *New data* con la tecla *Enter*. De esta forma el instrumento comenzó a registrar las mediciones.



a) Medición en una incubadora.

b) Medición en el módulo de fitorremediación.

c) Teclado del *data logger*.

Figura 13. Disposición del medidor de luz LI-COR dentro de los módulos.

2.11. Plomo soluble (Pb^{2+})

2.11.1. Muestreo y análisis. El punto de muestreo del sistema fitorremediador se ubicó en la salida de la tubería de retorno al reservorio, ya que esta toma es representativa del líquido que ya estuvo en contacto con las líneas de tubos de PVC, y de todo el módulo de fitorremediación en general. Para las corridas de los blancos, se muestrearon 200 ml de líquido recolectado directamente en una botella de polietileno de alta densidad (HDPE, por sus siglas en inglés). Para las corridas de fitorremediación con *H. bonariensis* y la prueba de homogeneidad, se enjuagó tres veces una jeringa de plástico sin aguja con la muestra de líquido a analizar. Después con esta misma jeringa se tomó muestra de agua que se hizo pasar a través de un filtro de $0.45 \mu m$ (marca Millipore Millex-HV-Hydrophilic PVDF), y cuyo filtrado se recolectó hasta completar 200 ml de muestra en una botella de HDPE.

Para todos los casos, a la muestra recolectada en la botella de HDPE se le agregó 1 ml de ácido nítrico concentrado para lograr un pH de al menos 2, y después se tapó herméticamente. La conservación y transporte de las muestras fue en condiciones de refrigeración. Cada muestra fue identificada de forma individual.

El análisis de plomo soluble lo realizó el laboratorio ABC Analitic, bajo el método de Espectrofotometría de absorción atómica, con método de referencia US EPA 6010C-2007. El número

de acreditación de este laboratorio ante la EMA (Entidad Mexicana de Acreditación, A. C.) es AG-096-029/11.

2.11.2. Cálculo de contenido de Pb^{2+} . Se consideró que el volumen total del líquido recirculando dentro del sistema fitorremediador en un momento dado (V_t) consta de la sumatoria de dos volúmenes: el que está contenido en el reservorio (V_r), y el que está en recirculación fuera de este (V_c) (ecuación 2).

$$V_t = V_r + V_c \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

V_t : Volumen total de líquido en recirculación.

V_r : Volumen medido en la graduación del reservorio.

V_c : Volumen en recirculación, es decir, volumen fuera del reservorio.

V_c es un volumen constante a lo largo de toda la corrida, y se calculó con la bomba encendida, en el día cero de cada prueba. Para su obtención se midió el nivel dentro del reservorio (V_{c_0}) una vez que el agua de retorno regresó al este, es decir, cuando ya se había llenado el módulo fitorremediador. A este valor inicial se le restó el volumen adicional que aportaron la bomba y su tubería (V_b) sumergidos, que fue de 1.5 L. Ya que el volumen inicial (V_i) era conocido (50L en todos los casos), V_c se calculó restando al volumen inicial el valor de V_{c_0} (ecuación 3).

$$V_c = V_i - V_b - V_{c_0} \quad \text{Ecuación 3}$$

Por otro lado, V_r fue cambiante con respecto al tiempo, ya que dependió de la cantidad de agua evapotranspirada por el sistema. V_r consistió en la medición directa y puntual del nivel de agua dentro del reservorio, sustrayendo de tal valor V_b .

El contenido total de Pb^{2+} ($M_{Pb^{2+}}$) se calculó multiplicando V_t (en litros) por la concentración de Pb^{2+} soluble ($C_{Pb^{2+}}$) en ppm reportada en los análisis de laboratorio (ecuación 4).

$$M_{Pb^{2+}} = V_t * C_{Pb^{2+}} [=] \text{ mg} \quad \text{Ecuación 4}$$

Como aclaración final, durante las pruebas de fitorremediación con *H. bonariensis*, cada semana se repuso el volumen perdido a causa de la evapotranspiración, con agua destilada tipo II. La reposición de volumen ayudó a evitar que la bomba hiciera cavitación por falta de líquido en el reservorio. El volumen mínimo de líquido dentro del reservorio para el buen funcionamiento de la bomba se fijó en 12 L.

2.12. Plomo en matrices sólidas (Pb(II)) y contenido de humedad

2.12.1. Muestreo y análisis. Antes de intervenir las líneas de tubos de PVC en el módulo de fitorremediación, se apagó la bomba, y por mecanismo de sifón casi la totalidad del líquido en este módulo regresó al reservorio a través del codo.

De los genets se separaron los tallos (incluyendo sus hojas) de los rizomas (incluidos nódulos y raíces). Los cortes de los tallos se hicieron en su base a nivel de nódulo. De estos genets se muestrearon al menos 10 g de rizoma y 10 g de tallos con hojas. A las raíces se les retiró la mayor cantidad de agrolita por medios mecánicos, como golpes ligeros al rizoma, sin romperlo. Para fines del contenido de Pb(II) final no se realizaron enjuagues a la raíz para evitar arrastrar el Pb(II) adsorbido en ellas.

La agrolita se dejó escurrir por 15 minutos en las propias líneas de tubos de PVC, para eliminar exceso de líquido proveniente del módulo de fitorremediación. Con una cuchara de plástico desechable se retiró la mayor cantidad de agrolita dentro de las líneas de PVC.

Las muestras fueron pesadas antes de su resguardo. El tejido vegetal y la agrolita fueron guardadas herméticamente en bolsas Ziploc. La conservación y transporte de las muestras se realizaron en condiciones de refrigeración. Cada muestra fue identificada de forma individual.

El análisis de concentración de Pb(II), y el contenido de humedad en agrolita y tejidos vegetales los realizó Nyce Laboratorios, S. C. Para la concentración de Pb(II) se empleó Espectrometría de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES), con el método de referencia EPA 6010 C-2007. El contenido de agua se hizo bajo la NOM-116-SSA1-1994 (Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico). El número de acreditación de este laboratorio ante la EMA es A-0496-043/13.

2.12.2. Cálculo de datos en base seca e índices de fitorremediación. Debido a que el contenido de Pb(II) en las tres matrices analizadas se ve afectado por la cantidad de humedad que poseen, los factores de fitorremediación se refirieron a base seca de *H. bonariensis*. La concentración de Pb(II) en base seca ($C_{Pb(II)BS}$) se obtuvo usando la ecuación 5.

$$C_{Pb(II)BS} = \frac{C_{Pb(II)BH}}{f_s} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

$C_{Pb(II)BS}$: Concentración de Pb(II) en base seca, en $\text{mg}_{Pb(II)}/\text{kg}_{\text{materia seca}}$.

$C_{Pb(II)BH}$: Concentración de Pb(II) en base húmeda, en $\text{mg}_{Pb(II)}/\text{kg}_{\text{materia húmeda}}$. Dato proveniente del análisis de laboratorio.

$$f_s : \text{Fracción seca; calculada como } f_s = 1 - \frac{\text{contenido de agua (\%)}}{100}$$

Los factores de fitorremediación reportados en este trabajo son los siguientes.

a) Factor de translocación (FT), adimensional:

$$FT = \frac{C_{Pb(II)BS \text{ en tallos con hoja}}}{C_{Pb(II)BS \text{ en rizomas}}} \quad \text{Ecuación 6}$$

b) Factor de bioconcentración con respecto al sustrato (FB_S), adimensional:

$$FB_S = \frac{C_{Pb(II)BS \text{ en rizomas}}}{C_{Pb(II)BS \text{ en sustrato}}} \quad \text{Ecuación 7}$$

c) Factor de bioconcentración con respecto al medio acuoso (FB_A), en lkg⁻¹:

$$FB_A = \frac{C_{Pb(II)BS \text{ en rizomas}}}{C_{Pb^{2+} \text{ en el día cero}}} \quad \text{Ecuación 8}$$

Para fines del balance de masa del plomo en el sistema fitorremediador, se calculó la cantidad de este metal presente en las matrices analizadas (M_{Pb(II)}). En este caso se empleó C_{Pb(II)BS}, y una cantidad de materia seca dada (ya fuese de agrolita o de *H. bonariensis*). El cálculo se presenta en la ecuación 9.

$$M_{Pb(II)} = C_{Pb(II)BS} * m_S \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

M_{Pb(II)} : Cantidad de Pb(II) presente en la fracción sólida de una muestra, en mg.

C_{Pb(II)BS} : Concentración de Pb(II) en base seca, en mg_{Pb(II)}/kg_{materia seca}.

m_S : materia seca, calculada multiplicando el peso húmedo de la muestra por f_S, en kg_{materia}

seca.

Capítulo 3. Resultados y discusión

3.1. Elección del sustrato para propagar *H. bonariensis*

Se hicieron pruebas de crecimiento para fines de propagación de *H. bonariensis*. Esta se plantó en un tubo de PVC, variando el sustrato con tres distintos materiales: agrolita, fibra de coco, y una mezcla 1:1 en peso de fibra de coco con agrolita. En cada tubo de PVC se plantó un rizoma de *H. bonariensis*.

Durante 3 semanas se observó el desarrollo de los rizomas. Con base en el crecimiento de nuevos nódulos, el de más rápido crecimiento fueron las plantas puestas en agrolita. El que se mantuvo en 100% fibra de coco no generó nuevos nódulos, mientras que el que creció en 100% agrolita generó 3 nuevos nódulos. Por último, el rizoma de la mezcla 1:1 generó sólo un nódulo.

La diferencia de crecimiento pudo deberse a que, de acuerdo con observaciones cualitativas, la fibra de coco hidratada se compactó en el fondo del tubo de PVC. Esto debió dificultar la capacidad de extensión longitudinal del rizoma, ya que el ápice pudo haber requerido un esfuerzo mayor para atravesar el sustrato. Por otro lado, se apreció que la agrolita no se compactó y mantuvo un estado disgregado en el tubo de PVC. Bajo estas condiciones, el rizoma pudo tener la facilidad de penetrar en el sustrato de agrolita y alongarse. La mezcla 1:1 de agrolita y fibra de coco se comportó de forma intermedia a los dos casos ya mencionados.

De manera que se eligió a la agrolita como el sustrato para la producción (propagación) de más biomasa de *H. bonariensis*, y para realizar las pruebas de fitorremediación. Las ventajas de usar agrolita sobre la fibra de coco radicarón principalmente en sus características físicas. La agrolita tiene una forma granular, mientras que la fibra de coco es ahebrada y forma conglomerados de sus mismos filamentos. El tamaño de la agrolita es uniforme, pero no así lo son los componentes de la fibra de coco, que tienen formas y tamaños heterogéneos, y presentan tanto elementos fibrosos como piezas duras de múltiples dimensiones.

3.2. Modelación del comportamiento del Pb^{2+} en la solución nutritiva

Se empleó el programa MINEQL para modelar el comportamiento de la interacción del Pb^{2+} con los componentes químicos de la solución nutritiva diluida 7 veces. Se analizaron dos casos, uno que contempló la solución nutritiva y todos sus componentes químicos. El segundo caso derivó del primer análisis, ya que se encontró una interacción del Pb^{2+} con el fosfato monopotásico (KH_2PO_4).

3.2.1. Modelación con presencia de fosfatos

En la figura 14 se muestra la modelación del primer caso. La concentración del Pb^{2+} soluble total se fijó a $C=4.09E^{-5}$ mol/L (8.74 ppm), para contemplar un exceso del metal en el medio acuoso. El comportamiento de la concentración de Pb^{2+} total en función del pH está representado por la línea

continua en la figura 14. En los rangos de pH de 0.0 a 4.0 (zona ácida), y de 10.5 a 14.0 (zona básica) hay una predominancia del ión libre Pb^{2+} , y sin una alteración en la concentración total de 8.74 ppm de Pb^{2+} .

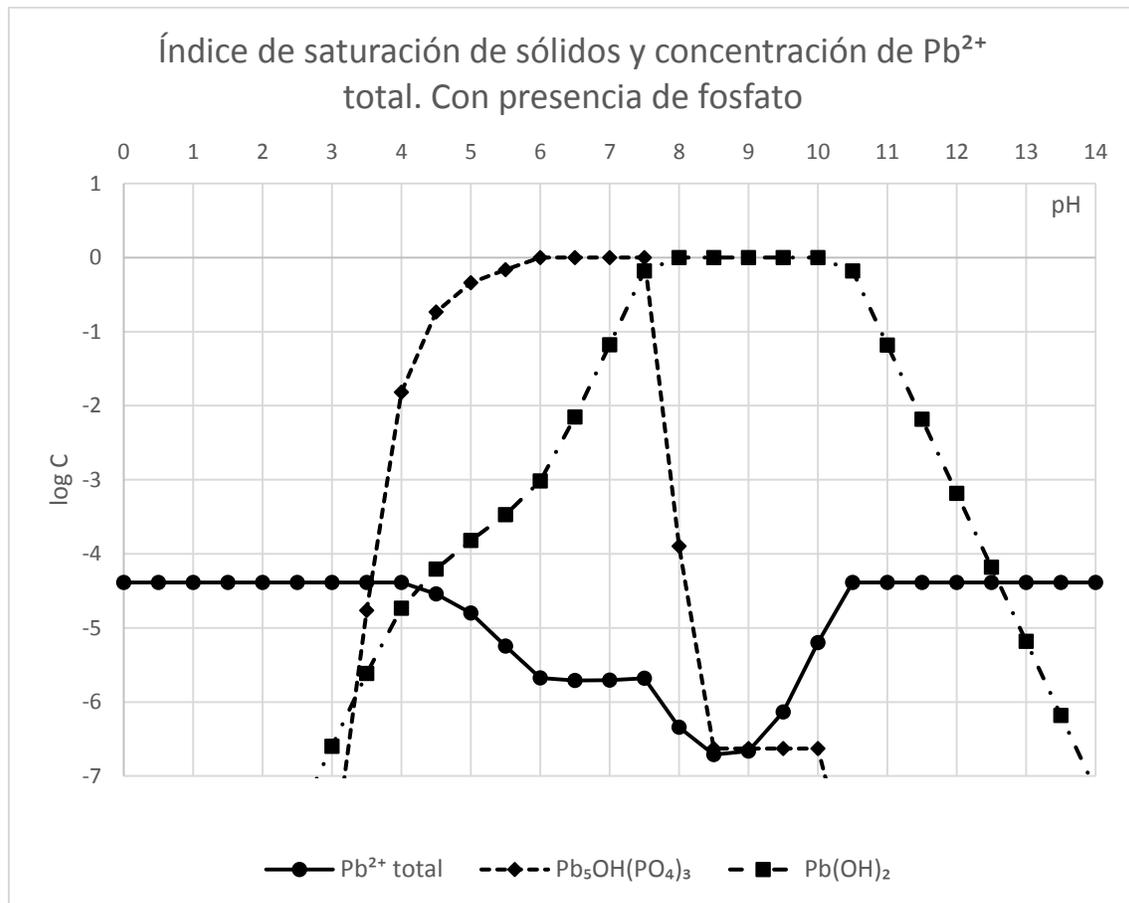


Figura 14. Índice de saturación de sólidos y concentración de Pb^{2+} total con presencia de fosfato.

Ahora bien, entre pH 4.0 y pH 10.5 la concentración de Pb^{2+} total disminuye en dos pasos. La primera reducción ocurre en la zona ácida, a partir de pH 4.0 y hasta pH 6.0, con valores mínimos de Pb^{2+} total de $0.20E^{-5}$ mol/L (0.43 ppm). El segundo descenso de la concentración ocurre en la zona básica, entre pH 7.5 y 9, con valores mínimos de Pb^{2+} total de $0.19E^{-6}$ mol/L (0.04 ppm).

En la figura 14 se observa que en las dos secciones donde se reduce la concentración de Pb^{2+} total, hay una generación de sólidos. En el descenso perteneciente a la zona ácida, precipita un complejo de hidróxido de Pb(II) fosfatado. El programa MINEQL solo otorga la composición estequiométrica del complejo, cuya fórmula condensada es $Pb_5OH(PO_4)_3$. Este sólido precipita en un pH

circunneutral, entre pH 6.0 y 7.5, que es donde su índice de saturación llega a $\log C=0$. A partir de pH ligeramente básico, el complejo $Pb_5OH(PO_4)_3$ desaparece como forma sólida.

El segundo sólido que precipita se trata del hidróxido de Pb(II) ($Pb(OH)_2$). Su índice de saturación alcanza $\log C=0$ entre pH 8.0 y 10.0, y coincide con el descenso de concentración de Pb^{2+} total en la zona básica.

De modo que se observa una predominancia del ion Pb^{2+} en un pH de difícil crecimiento para la planta (pH <4.0, y pH >10.5), por lo que no se lograría una disponibilidad de Pb^{2+} a pH 6.40 a 6.85, que es el pH objetivo de trabajo para las pruebas de fitorremediación. Hay que añadir que en esta modelación la concentración de Pb^{2+} total está en exceso, y que un aumento en la cantidad de Pb^{2+} en el medio para compensar su disminución causada por el complejo $Pb_5OH(PO_4)_3$, se alejaría aún más de la concentración de Pb^{2+} alrededor de la que se quiere emplear la fitorremediación, que es Pb^{2+} a 1.34 ppm.

3.2.2. Modelación sin presencia de fosfatos

En esta segunda modelación, se modificó la fórmula de la solución nutritiva, eliminando de ella la fuente de fósforo, que es el fosfato monopotásico (KH_2PO_4), con el objetivo de evitar la formación del complejo $Pb_5OH(PO_4)_3$. En la figura 15 se muestra la modelación del este caso.

La concentración del Pb^{2+} soluble total se fijó a $C=2.19E^{-5}$ mol/L (2.46 ppm), para acercarlo al valor de empleo de la fitorremediación. El comportamiento de la concentración de Pb^{2+} total en función del pH está representado por la línea continua en la figura 15. En los rangos de pH de 0.0 a 6.5 (zona ácida), y de 10.5 a 14.0 (zona básica) hay una predominancia del ión Pb^{2+} , y sin una alteración en la concentración total de 2.46 ppm de Pb^{2+} .

Ahora bien, entre pH 7.0 y pH 10.0 la concentración de Pb^{2+} es menor que 2.46 ppm. De hecho se llega a un valor mínimo de concentración de Pb^{2+} total de $0.19E^{-6}$ mol/L (0.04 ppm) a pH 8.5. Esto es consistente con la modelación en presencia de fosfatos para el mismo pH. No obstante en este caso solo hay una sola zona de descenso de la concentración de Pb^{2+} total, y que corresponde solamente a la generación del precipitado de hidróxido de Pb(II) ($Pb(OH)_2$). De forma análoga al caso con fosfatos, el índice de saturación de $Pb(OH)_2$ alcanza $\log C=0$ a pH básico, pero en esta modelación la saturación ya no comienza en pH 8, sino que va desde pH 7.0 hasta 10.0.

Conviene mencionar que en esta modelación ya no se tiene un efecto por parte del fósforo, y que el pH de trabajo para la fitorremediación (pH 6.40 a 6.85) se tiene disponible sin que exista la posibilidad de que se genere otro sólido de Pb(II) como precipitado.

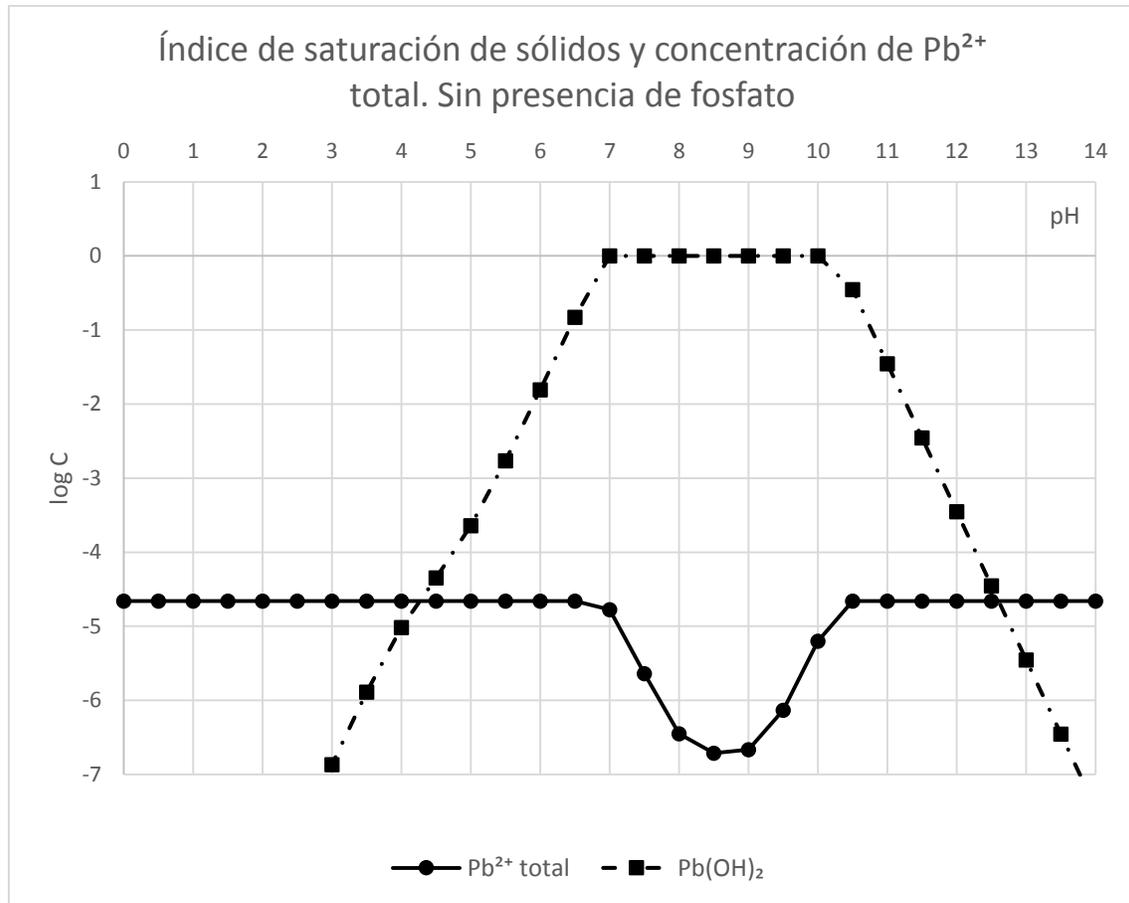


Figura 15. Índice de saturación de sólidos y concentración de Pb^{2+} total sin presencia de fosfato.

Es necesario aclarar que los compuestos $Pb_5OH(PO_4)_3$ y $Pb(OH)_2$ no son los únicos sólidos derivados de Pb^{2+} cuya formación predice MINEQL. Sin embargo, el resto de estos compuestos no alcanzan una saturación de $\log C=0$, por lo que en la modelación no modifican la concentración de Pb^{2+} total y no fueron representados en las figuras 14 y 15. Como ejemplos de estos sólidos que no fueron reportados se tiene a la hidrocerusita ($Pb_3(CO_3)_2(OH)_2$) y la cerusita ($PbCO_3$), que son compuestos generados por la interacción del CO_2 ambiental con el sistema acuoso de Pb^{2+} abierto a la atmósfera.

3.2.3. Modelación con otros metales tóxicos

Como se ha mencionado con anterioridad, otros contaminantes encontrados en la Laguna de La Mancha son el cadmio y el mercurio. Con el fin de sentar un precedente del posible comportamiento de ambos metales tóxicos en el sistema acuoso compuesto por los nutrientes de la tabla 9, se presentan a continuación los escenarios posibles calculados por MINEQL. La figura 16 muestra las concentraciones acuosas de Cd^{2+} y de Hg_2^{2+} , y los índices de saturación de sus respectivos sólidos, que alcanzan valores de $\log C=0$, es decir, con alta probabilidad de precipitarse. Con especial

atención al mercurio, este se reporta en forma de ión diatómico, que es una forma estable del mercurio en fase acuosa. Para esta modelación se usaron las formas químicas solubles $Cd(NO_3)_2$ y acetato de mercurio, $Hg(C_2H_3O_2)_2$. Las concentraciones iniciales de Cd^{2+} y de Hg_2^{2+} fueron de 2.46 ppm.

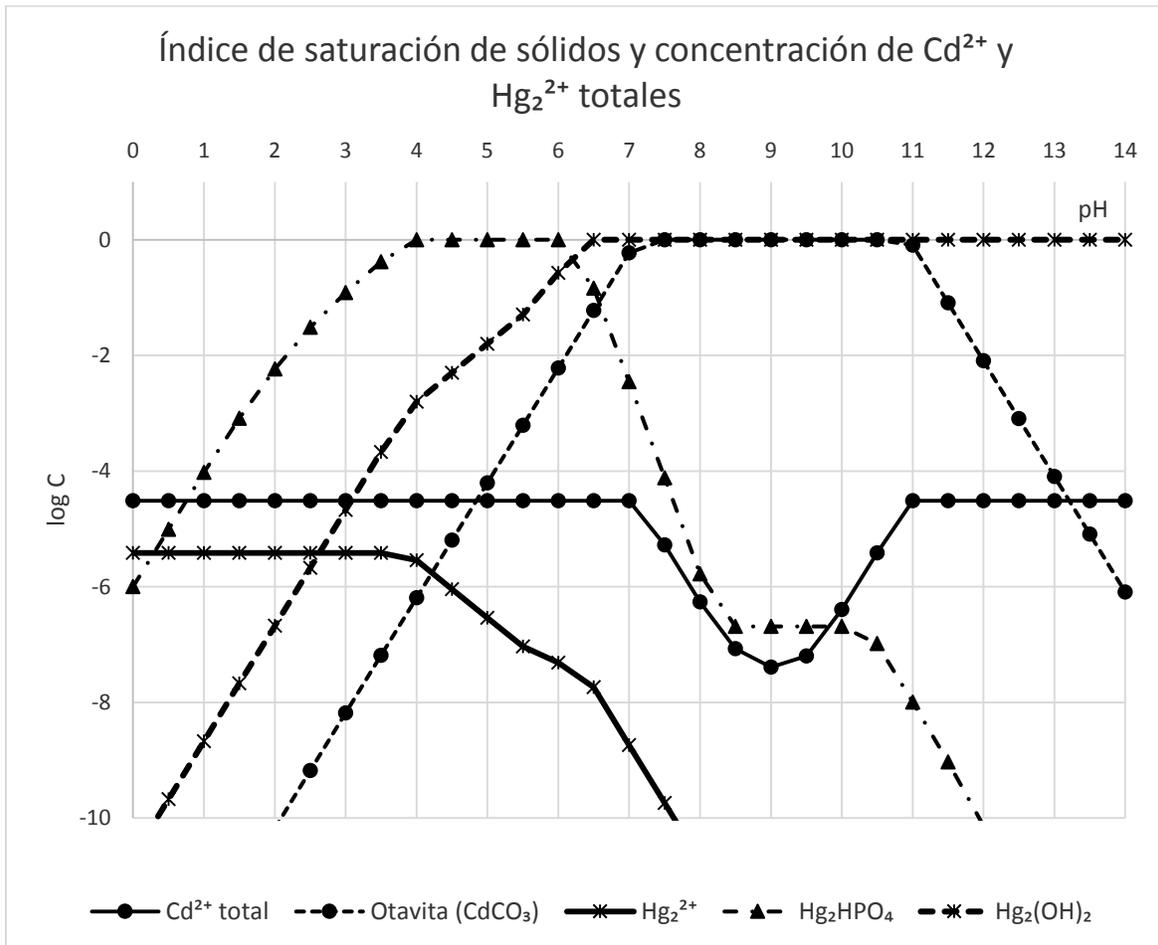


Figura 16. Índice de saturación de sólidos y concentración de Cd^{2+} y Hg_2^{2+} totales, en una fórmula nutritiva diluida 7 veces.

Con respecto al Cd^{2+} , su concentración total se mantiene estable hasta un pH de 7, donde disminuye gradualmente, hasta un mínimo de concentración en pH 9. En este caso, la otavita es la especie sólida de cadmio que precipita desde pH neutro, y que predomina hasta pH 11. A partir de este pH, el Cd^{2+} vuelve a solubilizarse. La otavita es un carbonato de cadmio que se genera por el intercambio de CO_2 atmosférico con la fase acuosa, y es independiente de la formulación nutritiva.

En cambio, la solubilidad del Hg_2^{2+} se pierde desde el rango ácido, y ya no regresa a su concentración inicial desde pH 4. A partir de pH 4 el mercurio se precipita en dos formas principales. La primera predomina de pH 4 a pH 6, y corresponde al fosfato monoácido de mercurio (Hg_2HPO_4), y esto se debe a la presencia de fosfatos en la fórmula nutritiva. La segunda especie sólida es el hidróxido de mercurio (II) ($Hg_2(OH)_2$), que aparece en pH 6.5, y predomina hasta pH 14. Es así que la solubilidad del mercurio no se logra en zonas de crecimiento óptimo de plantas.

Con estas modelaciones, se observa que el cadmio es un metal que, a diferencia del plomo soluble, no se ve alterado por la composición nutritiva de la fase acuosa, aunque sí tiene una restricción de solubilidad en pH básicos por condiciones atmosféricas. En cuanto al mercurio, es un metal que muy probablemente no se mantendrá estable en su forma iónica inorgánica en un sistema hidropónico a un pH circunneutral idóneo para el crecimiento de plantas.

3.3. Pruebas con plomo sin presencia de plantas (Blancos)

Como prueba de reto al sistema de fitorremediación y a las modelaciones en MINEQL del comportamiento de Pb^{2+} total en la solución nutritiva, se realizaron dos corridas del sistema fitorremediador para observar el cambio en la concentración de Pb^{2+} con respecto al tiempo. Se hizo una corrida empleando solución nutritiva diluida 7 veces con KH_2PO_4 en su fórmula (corrida A), y una segunda corrida solución nutritiva diluida 7 veces sin KH_2PO_4 en su composición (corrida B). Los resultados de estas pruebas se muestran en la tabla 11, que corresponden a 7 días de recirculación de la solución nutritiva con Pb^{2+} . No se montaron plantas ni sustrato (agrolita) en el sistema fitorremediador. En los muestreos del agua en recirculación se midió Pb^{2+} total en la fase acuosa, es decir, no se empleó filtro de $0.45\mu m$ durante la toma de las muestras.

Tanto la corrida A como la corrida B mostraron un descenso del Pb^{2+} total a lo largo del tiempo, y parece que llegaron a un equilibrio de concentración de Pb^{2+} total del día número 4 en adelante. En la corrida A la concentración de Pb^{2+} disminuyó casi 10 veces de un día a otro, y se mantuvo a menos de 0.07 ppm en los días 4 y 7. Se llevaron a cabo solo 4 muestreos de la corrida A por optimización de número de análisis de laboratorio.

En cuanto a la corrida B, se hizo un muestreo diario para tener mejor resolución del efecto en la concentración de Pb^{2+} total derivado de la eliminación de KH_2PO_4 en la fórmula de la solución nutritiva. La concentración inicial de Pb^{2+} total en la corrida B fue de 1.8460 ppm, y en el día 1 aumentó a 2.4560 ppm. Muy difícilmente este incremento se pudo haber debido a una concentración de solutos por pérdida de agua a causa de evaporación, ya que de un día a otro se observó la disminución de solo 0.5 L en el volumen de recirculación. Probablemente la diferencia de

concentración de Pb²⁺ total entre el día 0 y el día 1 se debió a alguna interacción del Pb²⁺ con los componentes del medio acuoso, o a alguna causa puntual de ejecución durante el muestreo del día 1.

Tabla 11. Datos de concentración de Pb²⁺ en la solución nutritiva con respecto al tiempo, y la cantidad de Pb²⁺ presente calculado a partir del volumen total de líquido en recirculación. Se muestra el comparativo de la solución nutritiva con y sin KH₂PO₄. pH de la solución nutritiva de ambas corridas se mantuvo en 6. NR = No realizado.

Día de muestreo	Corrida A. Solución nutritiva con KH ₂ PO ₄ 31.4 mg/L			Corrida B. Solución nutritiva sin KH ₂ PO ₄		
	ppm Pb ²⁺ (mg/L)	Volumen en recirculación, Vt (L)	Pb ²⁺ total (mg)	ppm Pb ²⁺ (mg/L)	Volumen en recirculación, Vt (L)	Pb ²⁺ total (mg)
0	8.74330	50	437.2	1.8460	50.0	92.3
1	0.94223	47	44.3	2.4560	49.5	121.6
2	NR	NR	NR	1.4390	49.0	70.5
3	NR	NR	NR	0.7525	48.0	36.1
4	0.06747	45	3	0.5988	46.5	27.8
5	NR	NR	NR	0.5932	45.5	27.0
6	NR	NR	NR	0.5845	44.5	26.0
7	0.05433	42.5	2.3	0.5744	43.0	24.7
8	NR	NR	NR	0.5704	42.0	24.0

Vale destacar que el comportamiento general de la corrida B se diferenció de la corrida A, en que la concentración de Pb²⁺ total no disminuyó más allá de 0.5 ppm a partir del día 4, a pesar de que la concentración inicial de Pb²⁺ total fue aproximadamente 4 veces menor en la corrida B que en la A. Con base en los resultados de las corridas A y B de esta prueba, se confirmó el comportamiento general de la concentración de Pb²⁺ total de los casos estudiados en MINEQL. En ninguna de las dos corridas se alcanzaron exactamente las concentraciones mínimas calculadas por MINEQL a pH 6. La corrida A alcanzó como mínimo 0.05433 ppm en el día 7, mientras que MINEQL fijó una concentración de equilibrio de 0.43 ppm. Por su parte, en la corrida B se llegó hasta 0.5744 ppm en el día 7, y MINEQL determinó que la concentración de Pb²⁺ total no se ve alterada a pH 6. Hay que aclarar que MINEQL no contempla interacciones de la solución nutritiva con la superficie de los componentes del sistema fitorremediador, ni condiciones dinámicas de flujo a través de las tuberías, la bomba y los reservorios, que pueden provocar una mezcla con los gases ambientales (como oxígeno y dióxido de carbono), y que podría provocar o facilitar reacciones no contempladas por MINEQL.

En suma, la eliminación de KH_2PO_4 de la fórmula de la solución nutritiva tuvo un efecto positivo en mantener estable la concentración de Pb^{2+} total a lo largo de 7 días. Esto llevó a la decisión de eliminar el KH_2PO_4 de la solución nutritiva para las pruebas de fitorremediación. Sin embargo esta acción elimina la fuente de fósforo, nutriente esencial para el desarrollo de la planta. Así que se optó por aplicar el fertilizante GroGreen a las plantas, que contiene 30% en peso de fuente de fósforo en forma de óxido de fósforo (V) (P_2O_5), y que se aplica foliarmente, es decir, por medio de aspersiones de una solución de GroGreen directo a las hojas de la planta.

En la tabla 11 se muestra un octavo día de muestreo solo para la corrida B, que tuvo el objetivo de mostrar el efecto de la adición de GroGreen al sistema fitorremediador. Detallando las acciones realizadas, después del muestreo del día 7 se hicieron 15 aspersiones de GroGreen en la superficie del módulo de fitorremediación, asegurando la caída de la solución de GroGreen atomizada dentro de los tubos de crecimiento de las plantas y dentro del flujo de la solución nutritiva. El resultado de la concentración de Pb^{2+} total del día 8 no mostró una diferencia significativa con respecto al día 7; apenas se perdieron 0.7 mg de Pb^{2+} total en la fase acuosa de un día a otro, por lo que se descartó un efecto directo del P_2O_5 sobre el Pb^{2+} total similar al que se observó con el empleo de KH_2PO_4 en la solución nutritiva.

3.4. Pruebas de fitorremediación de Pb^{2+} con *Hydrocotyle bonariensis*

Estas pruebas se corrieron empleando solución nutritiva diluida 7 veces sin KH_2PO_4 en su composición. Se decidió llegar a una concentración inicial de Pb^{2+} soluble superior a 1.34 ppm, ya que con base en las pruebas con plomo sin presencia de plantas, el sistema tiende a perder Pb^{2+} de la fase acuosa. Con esta medida se aseguró tener siempre en el sistema de fitorremediación una concentración de Pb^{2+} soluble fuera de límites normativos y por arriba del 1.34 ppm. Para retar la reproducibilidad, se llevaron a cabo dos corridas de fitorremediación bajo las mismas condiciones, dentro de las cuales se enfatizan las siguientes:

- a) El tiempo total de exposición de las plantas a la solución nutritiva contaminada con Pb^{2+} fue de 21 días. La corrida 1 se llevó a cabo del 30 de noviembre de 2016 al 21 de diciembre del 2016. La corrida 2 se ejecutó del 26 de enero de 2017 al 16 de febrero de 2017.
- b) Cada día 7 y 14 se repuso el volumen perdido por evapotranspiración en el sistema con agua destilada tipo II. Se repusieron volúmenes que variaron entre 5.5 L y 7 L. Es debido a esto que durante los días 8 y 15 se nota una dilución del Pb^{2+} soluble (ver figura 17). Tan solo no se cuenta con el dato del día 8 de la corrida 2, que se omitió del reporte de resultados.

- c) Cada día 8 y 15 se asperjaron las plantas con 15 atomizaciones de GroGreen 2 g/L. La adición de este fertilizante se hizo siempre después de haber realizado el muestreo de agua para análisis de Pb^{2+} soluble del día correspondiente.
- d) El pH de ambas corridas, tanto en el sustrato de los 3 tubos como en el seno acuoso, se mantuvo siempre en un valor de 6, salvo los dos siguientes casos puntuales en los que se alcanzó pH 7: corrida 1, día 7, sustrato del tubo 3; corrida 1, día 18, sustrato del tubo 1.
- e) Para mantener el pH en un valor de 6 y evitar la basificación del medio acuoso, cada día 7 y 14 se adicionaron 5 mL de ácido acético glacial 0.01 mM.
- f) Para la corrida 1, la temperatura promedio en el sustrato de los 3 tubos fue de 22.1 °C, con una temperatura máxima de 24 °C y una mínima de 21 °C. La temperatura promedio ambiental fue de 20.8 °C, con una temperatura máxima de 24 °C y una mínima de 19 °C. Por último, la temperatura promedio en el seno acuoso fue de 23.7 °C, con una temperatura máxima de 25 °C y una mínima de 22 °C.
- g) Para la corrida 2, la temperatura promedio en el sustrato de los 3 tubos fue de 21.9 °C, con una temperatura máxima de 24 °C y una mínima de 21 °C. La temperatura promedio ambiental fue de 19.6 °C, con una temperatura máxima de 21 °C y una mínima de 18 °C. Por último, la temperatura promedio en el seno acuoso fue de 23.1 °C, con una temperatura máxima de 24 °C y una mínima de 22 °C.

3.5. Comportamiento de Pb^{2+} soluble con respecto al tiempo

La figura 17 condensa los datos del comportamiento de Pb^{2+} soluble durante los 21 días de duración de cada una de las corridas. Los datos crudos de concentración de Pb^{2+} soluble ($C_{Pb^{2+}}$) están reportados en mg/L (ppm), y representados con líneas punteadas de la figura 17. Estos resultados sirvieron para obtener el contenido total de Pb^{2+} soluble ($M_{Pb^{2+}}$) en la solución nutritiva, reportado en miligramos y representado con líneas continuas en la figura 17.

La corrida 1 comenzó con una $C_{Pb^{2+}}$ de 4.7725 ppm, mientras que la corrida 2 comenzó con una $C_{Pb^{2+}}$ de 4.1218 ppm. A lo largo de los 21 días que duraron las pruebas, ambas corridas se mantuvieron por arriba de 1.34 ppm de $C_{Pb^{2+}}$. Tanto en los datos de $C_{Pb^{2+}}$, como en los de $M_{Pb^{2+}}$ (figura 17), la corrida 1 siempre mantuvo valores mayores que la corrida 2. No obstante, a lo largo de los 21 días de prueba, entre la corrida 1 y la 2, se puede hablar de un comportamiento paralelo de $C_{Pb^{2+}}$.

En el caso específico del comportamiento de $M_{Pb^{2+}}$ (líneas continuas en la figura 17), durante los 21 días de la prueba este se mantuvo siempre a la baja. Tanto en la corrida 1 como en la 2, se aprecia que durante los primeros 4 días de prueba ocurrió un rápido descenso de $M_{Pb^{2+}}$. A partir del cuarto

día, la disminución de $M_{Pb^{2+}}$ fue menos precipitada, lo que es similar a lo descrito para la corrida B (tabla 11), en cuanto a que $M_{Pb^{2+}}$ se mantuvo casi constante desde el día 4. En contraste con la corrida B, el empleo de plantas y agrolita en el sistema fitorremediador tuvo un efecto adicional en el descenso de $M_{Pb^{2+}}$, ya que este no se mantuvo estable entre el día 4 y el día 21, tanto en la corrida 1 como en la 2.

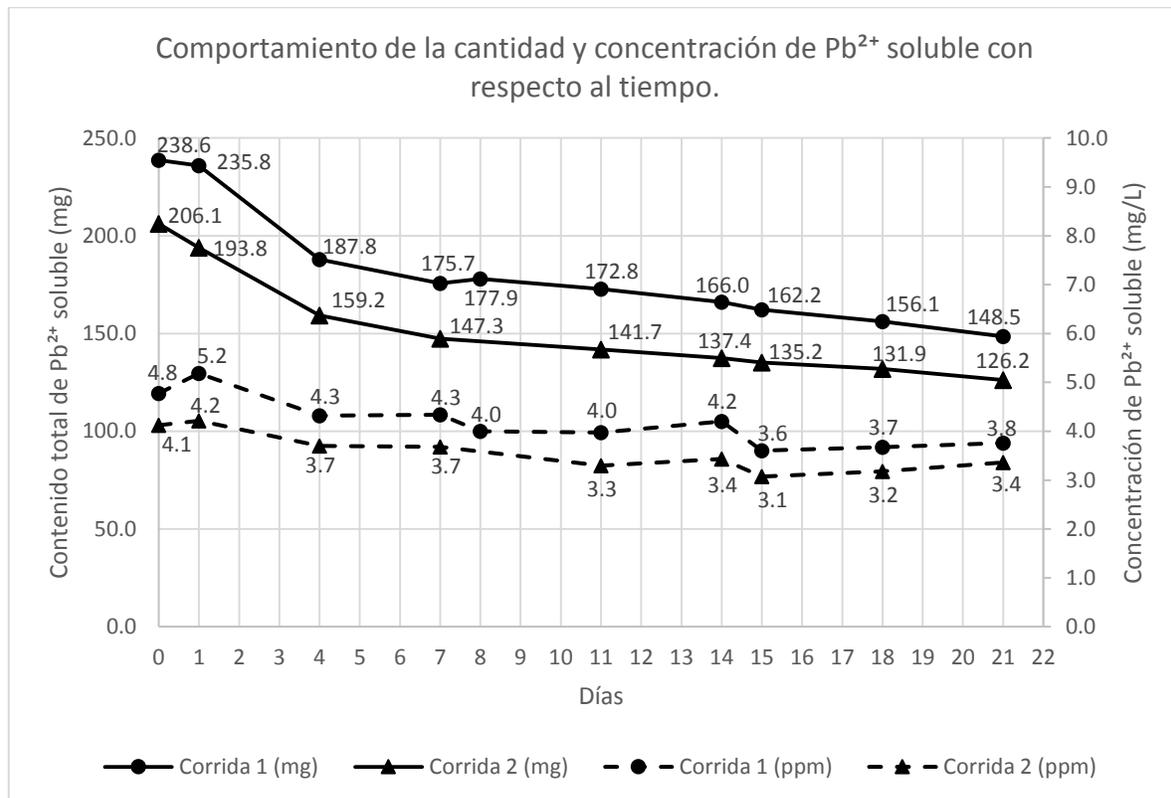


Figura 17. Comportamiento de $C_{Pb^{2+}}$ y $M_{Pb^{2+}}$ con respecto al tiempo, en la fase acuosa de la solución nutritiva.

Así mismo se comprobó que el plomo permaneció soluble a pesar de la modificación de la fuente y el modo de aplicación de la fuente de fósforo. No se apreció ninguna interacción directamente relacionada con la aspersión de GroGreen a las plantas, y tampoco se detectó ninguna afectación al desarrollo de las mismas.

3.6. Homogeneidad del Pb^{2+} soluble en el sistema fitorremediador

Con el objetivo de descartar zonas de gradientes donde pudiera no estar bien distribuido el Pb^{2+} , se realizó esta prueba de homogeneidad en el módulo fitorremediador. La figura 18 esquematiza la ubicación de la toma de las muestras. La muestra 1 se tomó a la salida del flujo de solución nutritiva, en la superficie del tanque. La muestra 2 se tomó en el centro geométrico del tanque, en el fondo del mismo, con el propósito de retar algún gradiente por distancia vertical. Por último, la muestra 3

se tomó dentro del sustrato del tubo 2, con la finalidad de conocer qué tanta diferencia de concentración de Pb^{2+} soluble hay entre el seno del tanque y el líquido que se filtra al interior del tubo de crecimiento de las plantas. Las muestras se recolectaron durante la corrida 1, en el día 2.

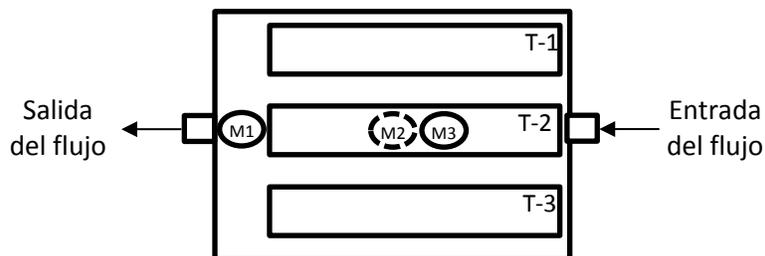


Figura 18. Diagrama de la vista superior del módulo fitorremediador. Etiquetas: T-1, tubo 1; T-2, tubo 2; T-3, tubo 3; M1, muestra 1; M2, muestra 2 ; M3, muestra 3. Los círculos con línea continua significan que la muestra se tomó en la superficie. El círculo con línea punteada significa que la muestra se tomó en el fondo del tanque.

Los resultados de los muestreos para homogeneidad se muestran en la tabla 12. $C_{Pb^{2+}}$ varió entre 4.0762 ppm y 4.5189 ppm. Con base en esto se concluye que no hay un gradiente en el sistema donde se estén generando zonas de acumulación de Pb^{2+} soluble. La prueba de homogeneidad se ejecutó una sola ocasión, y se decidió no repetirla en la corrida 2.

Tabla 12. Homogeneidad de la concentración de Pb^{2+} en la sección fitorremediadora.

Muestra	Pb^{2+} soluble (mg/L)
1	4.5189
2	4.3927
3	4.0762

3.7. Características de crecimiento de las plantas

Tanto en la corrida 1 como en la corrida 2 se observó un desarrollo normal en las plantas. Cotidianamente se revisaban y documentaban características cualitativas de los tejidos aéreos de *H. bonariensis*. Así, siempre se encontraron hojas verdes, expandidas, reflejantes y lisas (ver inciso a de la figura 19). En cuanto a los tallos, siempre estuvieron firmes e hidratados.

Con respecto a los rizomas, y en especial las raíces que no pudieron ser revisadas directamente con una frecuencia periódica, también se notó un desarrollo inalterado. Los rizomas fueron evaluados cualitativamente al final de las corridas. Tal como se muestra en la figura 19, la imagen c

corresponde al último día de la corrida 2, antes de procesar las muestras para análisis de contenido de $Pb(II)$ en matriz vegetal. Los rizomas siguieron teniendo ápices en crecimiento (imagen c, figura 19), generación de nódulos (imagen c, figura 19) y desarrollo de tallos con hoja (imágenes b, c y d, figura 19).

Se debe agregar que las plantas en los tres tubos del módulo de fitorremediación, se mantuvieron libres de plagas en todo momento, con base en la revisión cotidiana de sustrato, tallos, y anverso y reverso de hojas.



a) Hojas. Corrida 1, día 14.



b) Brotes en tubo 3. Corrida 1, día 18.



c) Muestra de rizoma con nódulos, raíz, ápice y brotes de tallos. Corrida 2, día 21.



d) Brotes en tubo 2. Corrida 2, día 21.

Figura 19. Fotografías de tejidos de *H. bonariensis* en distintos momentos de las corridas 1 y 2 de fitorremediación.

3.8. Contenido de Pb(II) en matrices vegetales y agrolita. Base húmeda

Las figuras 20 y 21 presentan los resultados para las corridas 1 y 2, del contenido de Pb(II) en base húmeda ($Pb(II)_{BH}$), y del contenido de humedad en las tres matrices estudiadas: agrolita (sustrato), rizoma, y tallos con hoja. Se muestran dos tipos de resultados con respecto al tiempo. El primer conjunto de datos corresponde a los valores de contenido de $Pb(II)_{BH}$ del día cero de la corrida de fitorremediación, es decir, antes de plantar *H. bonariensis* en los tubos del módulo de fitorremediación. Para los muestreos del día cero sólo se analizó el contenido de $Pb(II)_{BH}$, ya que no se contó con suficiente biomasa de *H. bonariensis* para incluir el análisis de contenido de humedad. El segundo conjunto de datos corresponde al último día de las corridas de fitorremediación. Para el día 21 se cuenta con información de contenido de $Pb(II)_{BH}$ en las tres matrices y del contenido de humedad en ellas. El porcentaje de humedad de estas pruebas es el que se usó como dato de referencia para hacer los cálculos de peso seco (figura 22).

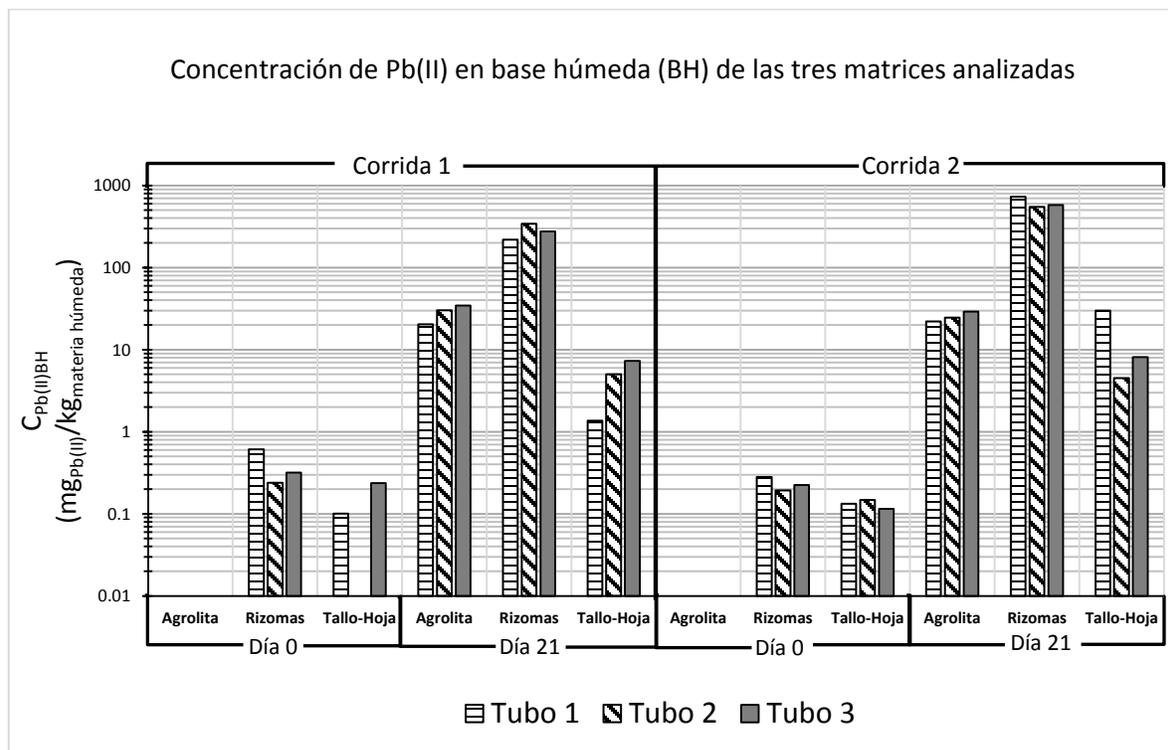


Figura 20. Concentración de Pb(II) en base húmeda (BH) de las tres matrices analizadas: agrolita, rizomas y tallos con hoja. Los resultados corresponden a cada uno de los tubos independientes de fitorremediación, tanto para la corrida 1 como para la corrida 2. Límite mínimo de detección es 0.1 mg/kg.

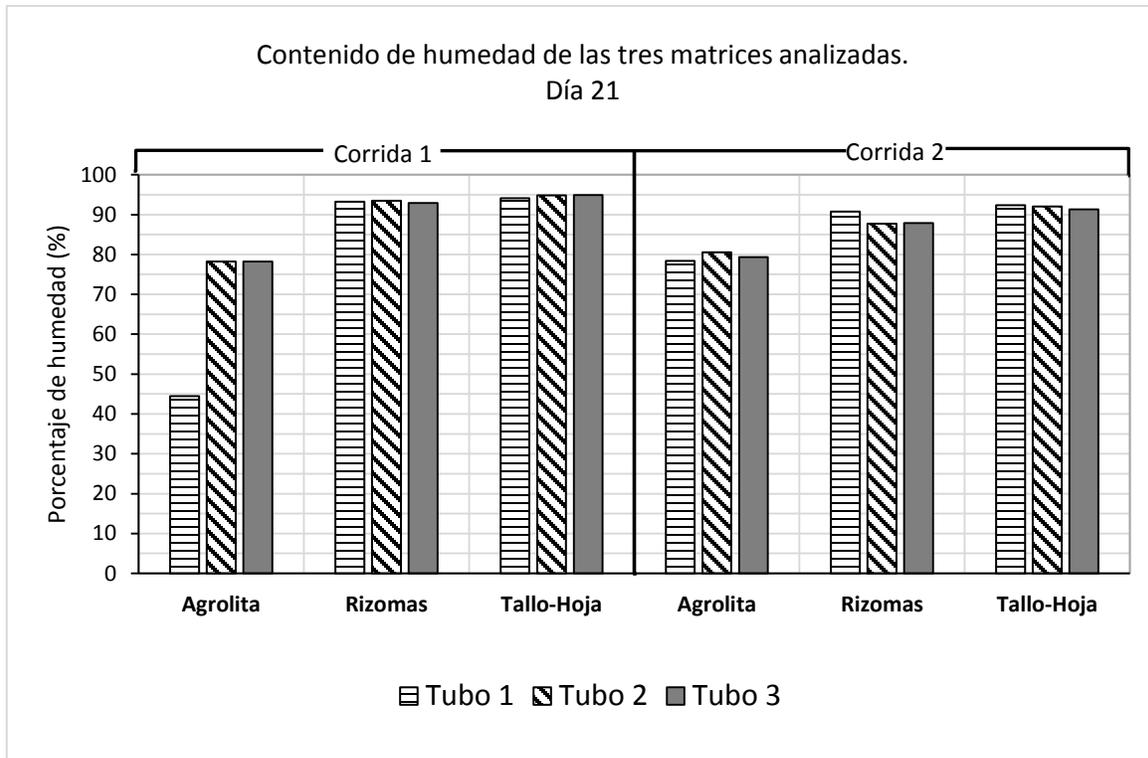


Figura 21. Contenido de humedad de las tres matrices analizadas: agrolita, rizomas y tallos con hoja. Los resultados corresponden a cada uno de los tubos independientes de fitorremediación, tanto para la corrida 1 como para la corrida 2.

Para el día cero, en ambas corridas se reporta una concentración no detectable de $Pb(II)_{BH}$ en agrolita, ya que se está empleando el dato de la concentración de $Pb(II)$ obtenido inicialmente para el lote de la agrolita usada como sustrato para las dos corridas de fitorremediación. Con base en esto, para los cálculos posteriores de contenido de $Pb(II)$ en base seca ($Pb(II)_{BS}$) de agrolita, se usa un valor de 0.0 ppm. Por otro lado, sí se detectó presencia de $Pb(II)$ en los tejidos de rizomas y tallos con hoja. Considerando los datos de ambas corridas de fitorremediación, el contenido de $Pb(II)_{BH}$ inicial varió entre 0.1937 ppm y 0.6117 ppm para los rizomas. Por lo que se refiere a los tallos con hoja, el rango de concentración de $Pb(II)_{BH}$ se situó entre indetectable hasta 0.2369 ppm, y por tanto, de forma global, con menor concentración que los rizomas.

Consideremos ahora los datos del día 21, en los que se nota un incremento de la concentración de $Pb(II)_{BH}$ en las tres matrices al final de las dos corridas de fitorremediación. De acuerdo con esto, se puede inferir que hubo una transferencia de Pb^{2+} del medio acuoso hacia la agrolita y los tejidos de *H. bonariensis*. Además los rizomas fueron nuevamente la matriz con mayor concentración de $Pb(II)_{BH}$, llegando a valores de hasta 730.50 ppm. La agrolita mostró concentraciones de $Pb(II)_{BH}$ entre 20.39 ppm y 34.56 ppm. Por último, en casi todas las muestras de tallos con hoja de ambas

corridas, la concentración de $Pb(II)_{BH}$ estuvo en un rango de 1.36 ppm a 8.11 ppm, excepto el tubo 1 en la corrida 2, cuyo valor fue de 29.94 ppm.

En particular, en el caso del tubo 1 se realizó un ajuste antes de comenzar la corrida 2, ya que con base en el la baja humedad de la agrolita (44.5% de contenido de agua) se dedujo que el tubo no estaba lo suficientemente sumergido en la solución nutritiva. Así que para la ejecución de la corrida 2, se aseguró que al tubo 1 permeara suficiente medio líquido y que la agrolita luciera igual de hidratada que la de los tubos 2 y 3, para lo que se requirió bajar el tubo 1 un centímetro aproximadamente, de la altura a la que originalmente se había montado en la corrida 1. Así en la corrida 2, la humedad resultante en la agrolita aumentó a 78.42%, que es un valor más parecido a los hallados en los tubos 2 y 3.

3.9. Contenido de Pb(II) en matrices vegetales y agrolita. Base seca

Debido a que el contenido de $Pb(II)$ en las tres matrices analizadas se ve afectado por la cantidad de humedad que poseen, en la figura 22 se muestran los datos de la concentración de $Pb(II)$ en base seca ($Pb(II)_{BS}$), con el objetivo de referir la cantidad de $Pb(II)$ solo a la masa sólida de la agrolita y el tejido vegetal. Los valores de $Pb(II)_{BS}$ mostrados en la figura 22 se obtuvieron a partir de los resultados de concentración de $Pb(II)_{BH}$ y contenido de humedad de las figuras 20 y 21.

De forma general, en ambas corridas se observa el mismo patrón observado en los datos de $Pb(II)_{BH}$ (figura 20). Es decir, los rizomas fueron la matriz con la mayor concentración de $Pb(II)_{BS}$, llegando hasta casi 8,000 ppm. En cuanto a la agrolita, en esta se calcularon concentraciones de $Pb(II)_{BS}$ entre 102.27 ppm y 158.53 ppm, a excepción del tubo 1 de la corrida 1 que, como ya se explicó previamente, pudo deberse a un contacto menor del tubo de PVC por su inmersión en el seno de la solución nutritiva. Por último, los tallos con hoja presentan concentraciones de $Pb(II)_{BS}$ que van de 23.05 ppm hasta 391.37 ppm.

Ahora bien, la tabla 13 muestra adicionalmente los cálculos de los índices de fitorremediación, que son tanto el factor de translocación (FT), como los dos factores de bioconcentración (FB_S y FB_A). El FT es el cociente de la concentración de $Pb(II)_{BS}$ en tallos con hoja y la concentración de $Pb(II)_{BS}$ en rizomas, y es un indicador del grado de transporte del $Pb(II)$ de raíces hacia tallos y hojas. Ningún FT reportado en la tabla 13 sobrepasa el valor de 0.05. De acuerdo con Mojiri et al. (2013), Yoon et al. (2006) y Fitz et al. (2002), una planta con FT mayor a 1 se clasifica como una planta que puede realizar fitoextracción, es decir, la absorción, translocación y acumulación de contaminantes en tejidos de la planta que no sean las raíces. Con base en el cálculo del FT para *H. bonariensis*, la absorción del Pb^{2+} se realiza en el rizoma, y se transloca hacia y se acumula en los tejidos aéreos

(tallos con hoja). Otras macrófitas como *Phragmites cummunis* y *Typha domingensis* exhiben valores de FT de 1.2 (Chandra et al., 2011) y 1.05 (Mojiri et al., 2013) respectivamente, crecidas en sistemas de humedales construidos. Así mismo, Mendoza et al. (2015) reportan un FT de hasta 1.2 para muestras de *H. bonariensis* recolectadas *in situ* en la cuenca de los ríos Matanza y Riachuelo, Argentina. De manera que en el presente estudio, que es un humedal construido, no se alcanzaron resultados de FT que caractericen a *H. bonariensis* como realizadora de fitoextracción, ni se observaron los valores de FT reportados para muestreos de plantas *in situ*.

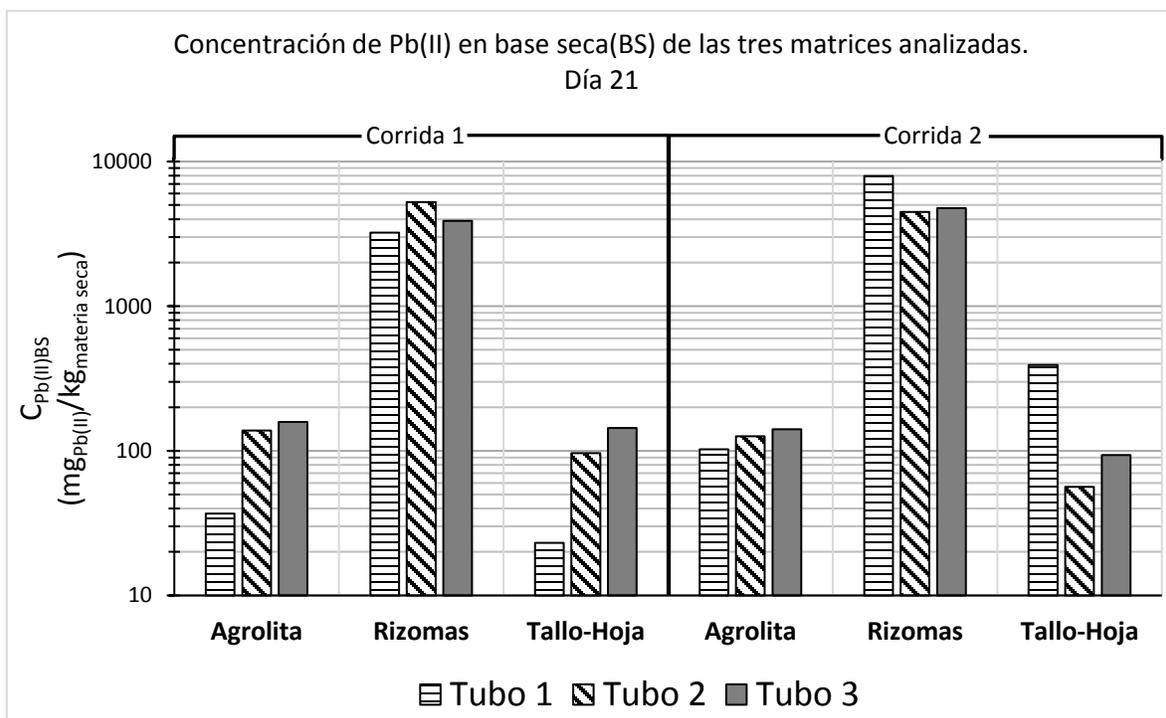


Figura 22. Concentración de Pb(II) en base seca (BS) de las tres matrices analizadas: agrolita, rizomas y tallos con hoja. Los resultados corresponden a cada uno de los tubos independientes de fitorremediación, tanto para la corrida 1 como para la corrida 2. Límite mínimo de detección es 0.1 mg/kg.

El factor de bioconcentración con respecto al sustrato (FB_s) es el cociente de la concentración de $Pb(II)_{BS}$ en rizomas y la concentración de $Pb(II)_{BS}$ en el suelo o sustrato de crecimiento de la planta; el FB_s es adimensional. Este dato es empleado en estudios de macrófitas como bioindicadores del grado de contaminación en sitios como minas, humedales o descargas de aguas residuales. Mendoza et al. (2015) reportan FB_s con valores de hasta 45 para muestras de *H. bonariensis*

recolectadas *in situ*. En la tabla 13 se muestran valores de FB_s entre 24.6 y 88.0, que son similares a y exceden los valores reportados por Mendoza et al. (2015).

Tabla 13. Índices de fitorremediación: factor de translocación (FT); factor de bioconcentración con respecto al sustrato (FB_s); y factor de bioconcentración con respecto al medio acuoso (FB_A). Resultados correspondientes a las dos corridas realizadas, y a cada uno de los tubos independientes de fitorremediación.

Tubo	Corrida 1			Corrida 2		
	FT (x10 ⁻³)	FB _s	FB _A (lkg ⁻¹)	FT (x10 ⁻³)	FB _s	FB _A (lkg ⁻¹)
1	7.1	88.0	677.6	49.3	77.64	1926.4
2	18.3	38.1	1100.9	12.6	35.54	1089.3
3	36.9	24.6	815.4	19.6	33.81	1158.6

El tercer índice de fitorremediación es el factor de bioconcentración con respecto al medio acuoso (FB_A), que se define como el cociente de la concentración de Pb(II)_{BS} en rizomas y la concentración inicial de Pb²⁺ en la solución nutritiva; el FB_A tiene unidades de l/kg. Para los cálculos de la tabla 13 se empleó la concentración de Pb²⁺ del día cero correspondiente a cada una de las dos corridas. El FB_A denota la capacidad de la planta para retirar el metal de interés de la fase líquida. De acuerdo con Olguín et al. (2012) y Zayed et al. (1998) una planta hiperacumuladora exhibe un FB_A superior a 1000 lkg⁻¹. Para las corridas 1 de fitorremediación, a excepción del tubo 1, los valores de FB_A están cercanos a y sobrepasan el criterio de 1000 lkg⁻¹ (tabla 13). Mientras tanto, en la corrida 2 todos los resultados de FB_A sobrepasan 1000 lkg⁻¹. Con base en esto, *H. bonariensis* muestra características de una planta hiperacumuladora.

3.10. Balance de Pb(II)

En la tabla 14 se reportan los datos de las cantidades de Pb(II) acumulados en las tres matrices al final de las dos corridas de fitorremediación. Para estos cálculos se emplearon los datos de concentración de Pb(II)_{BS} (figura 22), al igual que la materia seca obtenida el día 21. A las cantidades de Pb(II) acumulados en las tres matrices se les quitó el contenido de Pb(II) inicial hallado en el día cero (datos de la figura 20).

El contenido de Pb(II) total en la agrolita fue homogéneo. El tubo 1 de la corrida 1 vuelve a exhibir un alejamiento de los demás datos, teniendo el valor más bajo de contenido de Pb(II) total de ambas corridas de fitorremediación (1.47 mg). Sin embargo, los valores de los subtotales de Pb(II) total en agrolita es muy parecido entre sí, habiendo captado 13.33 mg de Pb(II) en la corrida 1, y 14.79 mg en la corrida 2.

Ahora bien, el contenido de Pb(II) en la matriz vegetal dependió de la biomasa producida. En la corrida 1, los subtotales de materia seca fueron menores que en la corrida 2, tanto en rizomas como en tallos con hoja. Esto se traduce en que al haber más biomasa en el sistema, se retuvo más cantidad de Pb(II) en ella. Así se puede explicar la diferencia del total de plomo retenido en las tres matrices, 26.58 mg en la corrida 1 y 49.70 mg en la corrida 2. Cabe aclarar que no se está demostrado un mejor o peor desarrollo de las plantas en cuanto a producción de biomasa, sino que la presencia misma de esta puede influir en el grado de captación del metal. Por ejemplo, en los tubos de la corrida 2, al día cero, se trasplantaron muestras de *H. bonariensis* con raíces y hojas más grandes (datos cualitativos no reportados) que las trasplantadas en el día cero de la corrida 1.

Tabla 14. M_{Pb²⁺} retenido en las tres matrices analizadas: agrolita, rizoma (Rz) y tallos con hoja (T-H). Resultados correspondientes al final de las dos corridas realizadas, y a cada uno de los tubos independientes de fitorremediación. También se muestra la materia seca de cada matriz al final de cada corrida. NA = No aplica.

Tubo	Corrida 1						Corrida 2					
	Pb(II) total (mg)			Materia seca (g)			Pb(II) total (mg)			Materia seca (g)		
	Agrolita	Rz	T-H	Agrolita	Rz	T-H	Agrolita	Rz	T-H	Agrolita	Rz	T-H
1	1.47	2.37	0.05	40	0.73	2.27	4.09	11.61	1.22	40	1.46	3.12
2	5.52	5.80	0.27	40	1.11	2.76	5.05	14.78	0.23	40	3.29	4.27
3	6.34	4.42	0.34	40	1.14	2.45	5.65	6.85	0.22	40	1.44	2.43
Sub-total	13.33	12.59	0.66	120	2.98	7.48	14.79	33.24	1.67	120	6.19	9.82
Total	26.58			120	10.46		49.70			120	16.01	

Con base en la figura 17, la diferencia de M_{Pb²⁺} entre el día cero y el día 21 representa el Pb²⁺ perdido de la fase acuosa. Así, en la corrida 1, 90.1 mg de Pb²⁺ desaparecieron del líquido, mientras que en la corrida 2 fueron 79.9 mg. Calculando el porcentaje de plomo retenido con base al total perdido de la fase acuosa, se obtiene que 29.5 % y 62.2% del Pb²⁺ se retuvo en las tres matrices de la corrida 1 y corrida 2, respectivamente. Esto coincide con lo explicado en el párrafo anterior, en que a pesar de que en la corrida 2 hubo valores menores de concentración de Pb²⁺ soluble que en la 1, el haber tenido presente más biomasa de *H. bonariensis* permitió una mayor retención del metal. De modo que 70.5% de Pb²⁺ soluble en la corrida 1, y 37.8% de Pb²⁺ soluble en la corrida 2 interactuaron en procesos no detallados en el presente estudio, pero que pudieron ser interacciones superficiales con los elementos de construcción del sistema fitorremediador, interacciones dinámicas en el transporte o difusión del medio líquido, reacciones con componentes químicos en la solución

nutritiva, reacciones con gases atmosféricos, o interacciones con microorganismos no alojados ninguna de las tres matrices analizadas (como la agrolita y los rizomas).

Capítulo 4. Discusión

Las modelaciones en MINEQL y las pruebas con plomo sin presencia de plantas ni de fuente de fósforo, demostraron una estabilidad de disolución del catión Pb^{2+} a un pH entre 6 y 7. Esto dio paso a tener dentro del sistema de fitorremediación el contaminante biodisponible para *H. bonariensis*. Durante las pruebas de fitorremediación, la planta tuvo un desarrollo equiparable al observado dentro de las incubadoras, bajo las condiciones ambientales y de nutrientes aplicadas.

A lo largo de los 21 días de las corridas de fitorremediación, los resultados del contenido total de plomo soluble denotaron dos comportamientos principales. El primero mostró un rápido decaimiento en la cantidad de Pb^{2+} durante los primeros 4 días, que puede atribuirse a la estabilización del sistema y la recirculación de la fase acuosa. En el segundo comportamiento, que duró del quinto día hasta la finalización de las pruebas, se observó una atenuación en la velocidad de descenso de la cantidad total de plomo soluble.

Con respecto a la cantidad de plomo retenido en las matrices sólidas, se midió y calculó el plomo en base seca del sustrato en donde creció la planta (agrolita), en los rizomas de *H. bonariensis*, y en sus tallos con hojas (tejidos aéreos). Estos tres indicadores fueron de utilidad para conocer el destino final del plomo soluble perdido de la fase acuosa, y calcular los índices de fitorremediación. Así, la agrolita tuvo un efecto de sorción constante en todas las mediciones; es decir, acumuló repetidamente casi la misma cantidad de plomo por unidad de peso. Con respecto a las matrices vegetales, la diferencia entre el contenido de plomo inicial y final medido en los tejidos aéreos no fue sustancial, lo que se reflejó en los bajos factores de translocación de *H. bonariensis* (todos menores a 0.05). En contraste, las raíces fueron la matriz donde más se acumuló el plomo, con valores que alcanzaron hasta 8000 ppm en peso seco, y con factores de bioconcentración con respecto a la fase acuosa superiores a 1000 lkg^{-1} en la mayoría de los casos.

Con base en el factor de translocación, no se puede atribuir a *H. bonariensis* la capacidad de realizar fitoextracción. Aunque hay que aclarar que como propuesta, en estudios posteriores fuera del alcance de esta tesis, puede retarse el tiempo de contacto de *H. bonariensis* con el plomo, incrementando las cinéticas a un período mayor de 21 días. Con esta acción podrían tenerse evidencias de la capacidad real de esta planta para fitoextraer plomo en humedales construidos. Por otro lado, los factores de bioconcentración, en especial el FBA, denotan una tolerancia hacia el plomo por parte de *H. bonariensis*, y además, una hiperacumulación con respecto a la concentración inicial del metal en el medio acuoso. Estas capacidades caracterizan a la planta como una macrófita fitoestabilizadora.

En cuanto al sistema fitorremediador, durante los 21 días de las corridas, de la fase acuosa se retiraron en promedio 85 mg de plomo. De esta cantidad, hasta un 62% quedó retenido en la agrolita y en los tejidos vegetales.

Es así como se han expuesto descriptivamente en esta sección los resultados de la parte experimental de este trabajo. No obstante, es necesario asentar una estrategia de bio-remediación que resalte las características del desarrollo de *H. bonariensis* en un sistema de fitorremediación de flujo horizontal. Ésta se describe a continuación.

1. *Elección del contaminante o grupo de contaminantes a remediar.* Como ya se ha explicado en la modelación con MINEQL, las características químicas del compuesto tóxico deben simularse si es que se posee con herramientas para ello. El uso de MINEQL se limita al empleo de compuestos inorgánicos principalmente. Se recomienda una amplia investigación bibliográfica del comportamiento de compuestos orgánicos, ya que estos, a diferencia de los metales tóxicos, pueden cambiar su estructura molecular, y, por lo tanto, expresar otro comportamiento químico.
2. *Pruebas a nivel laboratorio.* En esta fase se puede adaptar la planta a condiciones de crecimiento específicas y modificar variables críticas para el proceso de remediación. En el caso de *H. bonariensis*, se aprovechó su desarrollo clonal para obtener biomasa rápidamente. Por otro lado, *H. bonariensis* crece en sentido lateral y lineal, cubriendo horizontalmente terreno. Así, se adaptaron las líneas de fitorremediación para que la planta creciera linealmente en tubos de PVC. También se pueden definir en las pruebas de laboratorio los factores de fitorremediación que caracterizan a la planta, y su potencial uso *in situ*.
3. *Escalamiento.* En esta fase se deben tomar en cuenta las condiciones de la zona donde se empleará el humedal construido, y la calidad del agua que se requiere obtener en el efluente. Se puede considerar que se desea implementar un humedal construido para disminuir la cantidad de plomo en la laguna de La Mancha usando la fitoestabilización de *H. bonariensis*. La selección del lugar de implementación debe ser el más vulnerable por contaminación de plomo y a tener un efecto positivo con la bio-remediación. En este caso, la información con la que se cuenta muestra que el punto P6 de la tabla 6, es donde mayor concentración de plomo en agua existe en la laguna y que incumple legislaciones vigentes. Se debe encontrar una zona en tal lugar donde pueda demarcarse un área en donde asentar el humedal construido. De ser necesario, se deben hacer adecuaciones en el sitio en cuanto

al tipo de sustrato en el que van a crecer las plantas, y por el cual va a fluir el agua a remediar. Posteriormente se podrán trasplantar los rizomas de *H. bonariensis*. La disposición de los rizomas dentro del área de fitorremediación debe retarse antes del escalamiento, o en pruebas preliminares *in situ*. Tomando en cuenta el crecimiento de *H. bonariensis*, podría comenzarse con una plantación que cubra un 10% del área, situada en el centro del terreno, esperando que el crecimiento de los ápices sea en forma radial, y cubra el resto del terreno.

- 4. Control y mantenimiento.** Se debe implementar una estrategia de frecuencias de medición de calidad de agua, retención del metal pesado en los tejidos vegetales y en el sustrato de crecimiento. También se pueden aplicar criterios de concentración de presencia de nutrientes en sustrato y agua. El principal mantenimiento a la instalación radica en el crecimiento de las plantas y en la estructura del humedal construido. Se debe fijar un mantenimiento de poda y retiro de rizomas del sitio. Se puede aprovechar el crecimiento clonal de *H. bonariensis*, retirando, por ejemplo, el 90% de la biomasa generado, y dejando una cantidad suficiente de rizomas para que vuelvan a cubrir el humedal construido. Dado que solo se tienen datos de fitoestabilización, se recomienda retirar todo el rizoma, junto con sus tejido aéreos (hojas, tallos y flores). De comprobarse una fitoextracción, el retiro de biomasa se enfocaría solamente a los tejidos aéreos. El destino final de estos residuos debe estar en cumplimiento con normatividades vigentes, como la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final), que marca una máxima concentración de Pb en biosólidos de 840 ppm en peso seco para poder ser reaprovechados. Dados los resultados de esa tesis, es probable que los rizomas tengan valores mayores a 840 ppm en peso seco, por lo que se debe cumplir con el trámite SEMARNAT-07-017, que es el Registro de generadores de residuos peligrosos.

Capítulo 5. Conclusiones

El sistema de fitorremediación construido y probado en el laboratorio permitió generar condiciones de un humedal construido a nivel laboratorio para remoción de Pb^{2+} de una fase acuosa. La elección de *Hydrocotyle bonariensis* permitió acoplar un sistema de flujo de agua en sentido horizontal. A esta escala otros estudios (Lian et al., 2013; Yadav et al., 2012) optan por un afluyente de riego vertical (o por gravedad), con muestreos de concentración del contaminante en la parte baja del contenedor de las plantas. Por otro lado, estos humedales construidos (o artificiales) llegan a estar enfocados más a una remediación de suelos con presencia de agua intermitente; es decir, de suelos no necesariamente inundados. En esta tesis se dio importancia a mantener una alta proporción de medio acuoso interactuando casi directamente con los tejidos de *H. bonariensis*. Es por esto que con el empleo de agrolita se pudo controlar la intervención del sustrato entre la planta y el medio líquido, de modo que la agrolita puede servir como un modelo simple de referencia para el uso futuro de sustratos más complejos. Otra ventaja del humedal construido del presente estudio es que se mantuvieron condiciones dinámicas continuas en el medio acuoso. En ningún momento se perdió el flujo que aporta la bomba en el reservorio (salvo algunos minutos durante los momentos de reposición de volumen por pérdidas de evapotranspiración), y el sustrato siempre se mantuvo hidratado, lo cual aseguró condiciones de aporte permanente de agua y de nutrientes a las plantas. El uso de recirculación también permitió minimizar los desechos contaminados con Pb^{2+} durante las pruebas de fitorremediación. Es decir, no se descartaba el efluente después de un solo uso, y esto permitió la optimización de uso de recursos, sin comprometer los resultados de comportamiento del Pb^{2+} en fase acuosa (tabla 12 y figura 17).

De igual manera que el sustrato, las fuentes de nutrientes aplicadas por métodos hidropónicos permitieron una visualización controlada del comportamiento del desarrollo de la planta, y las interacciones del medio acuoso con Pb^{2+} . Al asegurar el aporte completo de nutrientes esenciales para la planta, hubo certeza de que cualquier cambio en el desarrollo de esta pudiera deberse a las interacciones con el plomo. Por otro lado, se pudo aplicar la herramienta MINEQL para modelar el comportamiento de los nutrientes con acotación a las condiciones específicas de este estudio. Los sistemas químicos con componentes múltiples suelen ser complicados de controlar, y se modifican con facilidad al cambiar variables como pH, concentración o especies químicas. Por ejemplo, Adriano (1986) reporta simulaciones del efecto de pH y concentraciones de cloruro (Cl^-) en las especies del plomo y la pérdida de solubilidad de Pb^{2+} . Sin embargo, esta información no es representativa del comportamiento del Pb^{2+} en un medio químico más complejo, como el de una

solución nutritiva hidropónica. De hecho, se pudo identificar fácilmente el acomplejamiento de Pb^{2+} con fosfatos. Es por esto que se recomienda la utilización de herramientas como MINEQL para simular el comportamiento del metal contaminante en un medio acuoso con múltiples componentes químicos, y bajo condiciones fisicoquímicas específicas.

La eliminación de la fuente de fósforo como parte de la solución nutritiva, y su sustitución por una aplicación foliar, podría parecer una acción que acerca a las pruebas de fitorremediación a una idealidad y no a un caso real. Sin embargo hay que tomar en cuenta que para efectos de apreciación del efecto de Pb^{2+} sobre las plantas de este estudio, fue justificable. En un ambiente natural la presencia de Pb^{2+} soluble en concentraciones que rebasan la normativa habla de un problema serio de contaminación. El Pb^{2+} no es un metal que tenga alta movilidad a través de reservorios naturales (por ejemplo agua, suelo y aire). El Pb^{2+} suele inmovilizarse en las superficies de partículas suspendidas de fases acuosas, o en el propio suelo. También reacciona con facilidad con diversos compuestos en fase líquida para crear compuestos insolubles, tal como lo hace con los carbonatos provenientes de la disolución de CO_2 ambiental. De modo que en esta tesis se generaron también las condiciones de presencia de Pb^{2+} en las que este metal ya no está bajo un control ambiental natural.

El desarrollo y adaptación de *H. bonariensis* son notables de resaltar. La planta posee la capacidad de una reproducción sexual a través de floración. Pero su desarrollo primordial es a través de crecimiento clonal, lo cual evita que para un cultivo de la planta se tengan que conseguir semillas y tener un proceso adicional de germinación. Con el uso de rizomas que contengan 3 o 2 o nódulos iniciales, se puede propiciar la propagación de la planta. Debido al crecimiento horizontal de *H. bonariensis*, se puede aprovechar esta característica para destinarla a potenciales sitios de fitorremediación cubriendo su superficie, tal como lo haría un pasto. Pero en contraste, *H. bonariensis* puede soportar condiciones de inundación, y lo que estas conllevan en la zona, tal como cambios en las condiciones redox del sitio. La desventaja que pudiera presentar *H. bonariensis* es que no genera un sistema de raíces tan grande y complejo como otras macrófitas fitorremediadoras. Por ejemplo, el bulbo de raíces de *Typha domingensis* llega a medir hasta 12 cm de diámetro, mientras que el nódulo de *H. bonariensis* incubadas en el UNAM-CU no sobrepasan los 3 cm de diámetro.

H. bonariensis se adaptó fácilmente a cambios de condiciones desde su recolección en La Mancha, hasta su comienzo de incubación en el Instituto de Ingeniería de la UNAM-CU, Ciudad de México. Los cambios principales que enfrentó fueron los ambientales: temperatura, humedad relativa,

altura y fuente de luz. Sin embargo, los sistemas de incubación y de fitorremediación fueron contruidos de tal manera que se mantuvo la temperatura de sustrato y el pH del sitio P6 descrito en la tabla 6. *H. bonariensis* también se adaptó a las fuentes de nutrientes hidropónicos, un sustrato de crecimiento distinto y una fuente de luz artificial. Esto sitúa a *H. bonariensis* en una postura de fácil manejo para su recolección, propagación y trasplatación sin afectar negativamente su desarrollo a corto plazo. Cabe destacar también que esta fácil adaptación la podría poner en una potencial especie invasora, de no contar con un análisis de impacto detallado previo a su uso en ambientes naturales.

Ambos factores de bioacumulación (FB_A y FB_S) descritos en la sección de resultados, soportan el potencial uso de *H. bonariensis* en procesos de fitorremediación. Los FB denotan una tolerancia de la planta a la presencia de Pb^{2+} , y a una hiperacumulación del metal en ella, sobre todo en su rizoma. Por otro lado, la translocación de $Pb(II)$ a otros tejidos es una característica que no exhibió *H. bonariensis*, y que puede deberse a características propias de la planta, es decir, que por sí misma no haya un transporte efectivo del metal dentro de sus tejidos, comenzando con algún impedimento a nivel de rizoma; o que el tiempo de exposición de 21 días al metal no haya sido suficiente para seguir acumulándolo en hojas y tallos. Con base en estos resultados, *H. bonariensis* es idónea para usarse en procesos de fitorremediación que involucren fitoestabilización y fitofiltración.

Dado que es remarcable la tolerancia de *H. bonariensis* con un contaminante como el plomo, esta especie puede complementar los efectos de fitorremediación de otras plantas. Así, de las especies en La Mancha que exhiben tolerancia a plomo y otros metales pesados (tabla 5), *Typha domingensis* y *Pistia stratiotes* son ejemplos sobresalientes de los procesos de fitorremediación. Incluso, se puede continuar con la corroboración de otras plantas con potencial fitorremediador, como *Sagittaria lancifolia* y *Mikania micrantha*. El aprovechamiento de estas plantas para la fitorremediación no solo se ve reflejado en la remediación misma, sino también en el empleo de especies que no generen un riesgo al equilibrio ecológico en la región. Por último, todas las acciones derivadas de la fitorremediación deben comprender una planeación, implementación, mantenimiento y disposición de residuos apegados a la normatividad vigente. En específico, los residuos que lleguen a clasificarse como peligrosos, deben seguir las normas NOM-004-SEMARNAT-2002 (Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final) y SEMARNAT-07-017.

Como futuras líneas de investigación, se propone:

1. Mantener a *H. bonariensis* expuesta a un medio acuoso contaminado con Pb^{2+} , por un tiempo mayor a 21 días y comprobar si el FT mejora.
2. Aumentar la escala del sistema fitorremediador. Por ejemplo, se podría retar el desempeño del *H. bonariensis* en un crecimiento superficial, y no lineal. Es decir, se podrían sustituir los tubos de PVC del sistema fitorremediador por una capa de determinada área con crecimiento de *H. bonariensis*.
3. Cambiar el sustrato y el medio acuoso del sistema fitorremediador por muestras de agua y suelo tomados *in situ* en La Mancha.
4. Retar la capacidad fitorremediadora de *H. bonariensis* con otros metales pesados, como cadmio. Esto definiría si *H. bonariensis* es más apta para uso contra otros contaminantes, y no solamente plomo.

Anexo 1. Bitácora de incubadora de aclimatación.

Bitácora de incubadora de aclimatación de *Hydrocotyle bonariensis* Ingeniería de Costas-ICMyL

Iniciales revisor: Fecha: Hora: Temperatura ambiente (°C): Temp. agua calent. (°C):

Humedad en sustrato	
<input type="radio"/> 1) Apariencia seca	<input type="radio"/> 2) Inundado
Indique si añadió agua destilada al sustrato	
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> No aplica <input type="radio"/>	
De no ser así, explique por qué en comentarios adicionales.	

Temperatura sustrato (°C)	<input type="text"/>
pH sustrato	<input type="text"/>
Día:	Lu <input type="radio"/> Mi <input type="radio"/> Vi <input type="radio"/> Puente <input type="radio"/>

Características predominantes de las plantas	Color de hojas	<input type="radio"/> Verde	<input type="radio"/> Amarillo	<input type="radio"/> Café/Hojas Secas
	Apertura de hojas	<input type="radio"/> Expandidas		<input type="radio"/> Enrolladas
	Brillo en hojas	<input type="radio"/> Reflejante y lisa		<input type="radio"/> Opaca y/o rugosa
	Bordes de hojas	<input type="radio"/> Continuo	<input type="radio"/> Irregular	<input type="radio"/> Seco
	Firmeza de tallo	<input type="radio"/> Firme e hidratado		<input type="radio"/> Caído y/o seco
	Otra	<input type="text"/>		

Organismos nocivos		
Revise 3 hojas al azar ¿hay plagas en anverso y reverso?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
¿Hay presencia de...?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
Plaga en sedimento	Plaga en agua	Insectos voladores
¿Hay plantas distintas a <i>H. bonariensis</i> ?		
Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>	No aplica <input type="radio"/>
¿Eliminó los insectos y/o plantas diferentes encontradas?		
Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>	No aplica <input type="radio"/>

¿La instalación eléctrica y estructural de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿La iluminación de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Adición solución nutritiva? (Debe hacerse cada JUEVES)	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hubo cambio repentino en las plantas que pueda afectarlas, ya sea de color, textura, apariencia o cond. ambiental?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hizo alguna actividad diferente no prevista en este formato? De haberlo hecho, describa en Coment. adicionales	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>

Comentarios adicionales: _____

Anexo 2. Bitácora de incubadora de propagación.

Bitácora de observación de propagación de *Hydrocotyle bonariensis*

Ingeniería de Costas-ICMyl

Iniciales revisor: Fecha: Hora: Temperatura ambiente (°C): Temp. agua calent. (°C):

Humedad en sustrato	
<input type="radio"/> 1) Apariencia seca	<input type="radio"/> 2) Inundado
Indique si añadió agua destilada al sustrato	
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> No aplica <input type="radio"/>	
De no ser así, explique por qué en comentarios adicionales.	

Características predominantes de los ramets			
Color de hojas	<input type="radio"/> Verde	<input type="radio"/> Amarillo	<input type="radio"/> Café/Hojas Secas
Apertura de hojas	<input type="radio"/> Expandidas		<input type="radio"/> Enrolladas
Brillo en hojas	<input type="radio"/> Reflejante y lisa		<input type="radio"/> Opaca y/o rugosa
Bordes de hojas	<input type="radio"/> Continuo	<input type="radio"/> Irregular	<input type="radio"/> Seco
Firmeza de tallo	<input type="radio"/> Firme e hidratado		<input type="radio"/> Caído y/o seco
Firmeza del rizoma	<input type="radio"/> Firme e hidratado		<input type="radio"/> Café y/o seco
Otra			

Fauna nociva		
Revise 1 hoja de cada genet ¿hay plagas en anverso y reverso?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 1	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 2	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 3
¿Hay presencia de plagas en el sustrato o insectos voladores?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 1	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 2	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Genet 3
¿Eliminó los insectos encontrados?		
Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>	No aplica <input type="radio"/>

Día: Lu <input type="radio"/> Mi <input type="radio"/> Vi <input type="radio"/> Puente <input type="radio"/>	<i>Tubo 1</i>	<i>Tubo 2</i>	<i>Tubo 3</i>
<i>pH sustrato</i>			
<i>Temperatura sustrato (°C) DIARIO</i>			

¿La instalación eléctrica y estructural de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿La iluminación de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Adicionó solución nutritiva? (Debe hacerse cada JUEVES)	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hubo cambio repentino en las plantas que pueda afectarlas, ya sea de color, textura, apariencia o cond. ambiental?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hizo alguna actividad diferente no prevista en este formato? De haberlo hecho, describa en Coment. adicionales	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>

Comentarios adicionales: _____

Anexo 3. Bitácora del sistema de fitorremediación.

Bitácora de observación del sistema fitorremediante de *H. bonariensis* Ingeniería de Costas-ICMyL
 Iniciales revisor: Fecha: Hora: Temperatura ambiente (°C): Temp. agua calent. (°C):

Flujo y nivel de agua	Sección fitorremediadora	<input type="radio"/> 1) Permite la recirculación. Mantiene sustrato húmedo	<input type="radio"/> 2) Recirculación imposibilitada. Sustrato seco
	Indique el aforo del reservorio: _____ L	<input type="radio"/> 1) Arriba del NMA (NMA: Nivel mínimo de agua. 12L encima de la bomba)	<input type="radio"/> 1) Se alcanzó el NMA, o por debajo del NMA
	Recuperación de Volumen Indique la cantidad adicionada de agua destilada para recuperar volumen	_____ L <input type="radio"/> No aplica <input type="radio"/>	

DIARIO	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Medio acuoso
pH				
Temperatura sustrata (°C)				

Características predominantes de las plantas	Color de hojas	<input type="radio"/> Verde	<input type="radio"/> Amarillo	<input type="radio"/> Café/Hojas Secas
	Apertura de hojas	<input type="radio"/> Expandidas		<input type="radio"/> Enrolladas
	Brillo en hojas	<input type="radio"/> Reflejante y lisa		<input type="radio"/> Opaca y/o rugosa
	Bordes de hojas	<input type="radio"/> Continuo	<input type="radio"/> Irregular	<input type="radio"/> Seco
	Firmeza de tallo	<input type="radio"/> Firme e hidratado		<input type="radio"/> Caído y/o seco
	Otra			

Fauna nociva		
Revise 1 hoja al azar de cada tubo ¿hay plagas en anverso y reverso?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
¿Hay presencia de...?		
Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
Plaga en sedimento	Plaga en agua	Insectos voladores
¿Eliminó los insectos encontrados?		
Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>	No aplica <input type="radio"/>

¿La instalación eléctrica y estructural de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿La iluminación de la incubadora es correcta?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hay fugas u obstrucciones en mangueras, tuberías o uniones?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hubo cambio repentino en las plantas que pueda afectarlas, ya sea de color, textura, apariencia o cond. ambiental?	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>
¿Hizo alguna actividad diferente no prevista en este formato? De haberlo hecho, describa en Coment. adicionales	Sí <input type="radio"/> No <input type="radio"/>

Comentarios adicionales: _____

Capítulo 6. Bibliografía

- Adriano, D. C. (1986). Trace elements in the terrestrial environment. Alemania: Springer-Verlag, pp. 1-21, 219-256.
- Ansari, A. A., Gill, S. S., Gill, R., Lanza, G. R., Newman, L. (2015). Phytoremediation management of environmental contaminants. Volumen 1. Suiza: Springer International Publishing, pp. 16.
- Ansari, A. A., Gill, S. S., Gill, R., Lanza, G. R., Newman, L. (2015). Phytoremediation management of environmental contaminants. Volumen 2. Suiza: Springer International Publishing, pp. 243-263.
- Bahadur, B., Rajam, M. V., Sahijram, L., Krishnamurthy, K. V. (2015). Plant biology and biotechnology. Volumen 1: Plant diversity, organization, function and improvement. India: Springer, pp. 499-536.
- Botello, A. V., Calva, L. G., Ponce V, G. (2001). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments from Coastal Lagoons of Veracruz State, Gulf of Mexico. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67, pp. 889–897.
- Castillo, S. A., Moreno-Casasola, P. (1996). Coastal sand dune vegetation: an extreme case of species invasion. Journal of Coastal Conservation, 2, pp. 13-22.
- CE-CCA-001/89. (1989). Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas. México: Diario Oficial de la Federación.
- Chandra, R., Yadav, S. (2011). Phytoremediation Of Cd, Cr, Cu, Mn, Fe, Ni, Pb And Zn From Aqueous Solution Using *Phragmites cummunis*, *Typha angustifolia* And *Cyperus esculentus*. International Journal of Phytoremediation, 13, pp.580–591.
- Chatterjee, S., Chetia, M., Singh, L., Chattopadhyay, B., Datta, S., Mukhopadhyay, S. K. (2011). A study on the phytoaccumulation of waste elements in wetland plants of a Ramsar site in India. Environ Monit Assess, 178, pp. 361–371.
- Chávez, V., Mendoza, E., Ramírez, E., Rodolfo, S. (2016). Response of Empirically Managed Sites To Winter Storms. Case Study: La Mancha, Veracruz, Mexico. Coastal Engineering Proceedings, 35.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). (2003). Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). La Mancha y el Llano. Disponible en http://ramsar.conanp.gob.mx/docs/sitios/FIR_RAM SAR/Veracruz/La_Mancha_y_El_Llano/La%20Mancha%20y%20El%20Llano.pdf

- CONABIO. Ficha Enciclovida: Bejuco de criatura (*Mikania micrantha*). Disponible en <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6046670>
- CONABIO. Ficha Enciclovida: Dollar weed (*Hydrocotyle bonariensis*). Disponible en <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6026930>
- CONABIO. Ficha Enciclovida Lirio (*Sagittaria lancifolia*). Disponible en <http://www.enciclovida.mx/especies/6024676>
- Evans, J. P. (1988). Nitrogen translocation in a clonal dune perennial, *Hydrocotyle bonariensis*. *Oecologia*, 77, pp. 64-68.
- Farrag, H. F., Al-Sodany, Y. M., Otiby, F. G. (2013). Phytoremediation and Accumulation Characteristics of Heavy Metals by Some Plants in Wadi Alargy-Wetland, Taif-KSA. *World Applied Sciences Journal*, 28(5), pp. 644-653.
- Fitz, W. J., Wenzel, W. W. (2002). Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology*, 99, pp. 259-278.
- 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. *Bioresource Technology*, 101, pp. 3864–3869.
- Gordon Collon, E., Velasquez, J. (1989). Dispersion, Germination and Growth of Seedlings of *Sagittaria lancifolia* L. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica*, 24(1), pp. 37-49.
- Green, D. W. (1997). Perry's chemical engineers' handbook. 7a. ed. Estados Unidos: McGraw-Hill, pp. 2-16.
- The Perlite Institute. (2005). Indoor gardening with perlite. Estados Unidos: The Perlite Institute Inc. Pp. 3. https://www.perlite.org/library-perlite-info/horticultural-perlite/Indoor-Gardening_Perlite.pdf
- Hasegawa, H., Rahman, I. M. M., Rahman, M. A. (2016). Environmental remediation technologies for metal-contaminated soils. Japón: Springer, pp. 161-196.
- Hoagland, D. R., Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. Estados Unidos: The College of Agriculture University of California-Berkeley, pp. 32.
- Irshad, M., Ahmad, S., Pervez, A., Inoue, M. (2015). Phytoaccumulation of Heavy Metals in Natural Plants Thriving on Wastewater Effluent at Hattar Industrial Estate, Pakistan. *International Journal of Phytoremediation*, 17:2, pp. 154-158.

- Kumar, N., Baudh, K., Kumar, S., Dwivedi, N. (2013). Accumulation of metals in weed species grown on the soil contaminated with industrial waste and their phytoremediation potential. *Ecological Engineering*, 61, pp. 491-495.
- Kvesitadze, G., Khatisashvili, G., Sadunishvili, T., Ramsden, J. J. (2006). *Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants*. Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 174.
- Ley de Aguas Nacionales. (2014). México: Diario Oficial de la Federación, pp. 5.
- Lian, J. J., Xu, S. G., Zhang, Y. M., Han, C. W. (2013). Molybdenum(VI) removal by using constructed wetlands. *Water Science & Technology*, 67.8, pp. 1859 – 1866.
- with different filter media and plants
- Longstreth, D. J., Hartstock, T. L., Nobel, P. S. (1981). Light effects on leaf development and photosynthetic capacity of *Hydrocotyle bonariensis* Lam. *Photosynthesis Research*, 2, pp.95-104.
- Martínez, E. (2017). Los Manglares, una membrana ecológica en el litoral. Tesis de maestría. México: Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 80.
- Mazumdar, K., Das, S. (2015). Phytoremediation of Pb, Zn, Fe, and Mg with 25 wetland plant species from a paper mill contaminated site in North East India. *Environ Sci Pollut Res*, 22, pp. 701–710.
- Mendoza, R. E., García, I. V., de Cabo, L., Weigandt, C. F., de Ioro, A. F. (2015). The interaction of heavy metals and nutrients present in soil and native plants with arbuscular mycorrhizae on the riverside in the Matanza-Riachuelo River Basin (Argentina). *Science of the Total Environment*, 505, pp. 555–564
- Mojiri, A., Aziz, A. H., Zahed, M. A., Aziz, S. Q., Selamat, M. R. (2013). Phytoremediation of Heavy Metals from Urban Waste Leachate by Southern Cattail (*Typha domingensis*). *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences*, 1(4), pp. 63-70.
- Moreno-Casasola, P. (1988). Patterns of plant species distribution on coastal dunes along the Gulf of Mexico. *Journal of Biogeography*, 15, pp 787-806.
- Moreno-Casasola, P. (Ed.). (2006). *Entornos veracruzanos: la costa de La Mancha*. México: Instituto de Ecología, A.C., pp. 115-311.
- Moreno-Casasola, P. (2010). Restauración experimental de un popal invadido por el zacate alemán (*Echinochloa pyramidalis*, POACEAE) en el sitio Ramsar No. 1336 La Mancha y El Llano. Instituto de Ecología A.C. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. FH001. México, D.F.

- NOM-001-SEMARNAT-1996. (1996). Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-004-SEMARNAT-2002. (2003). Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. México: Diario Oficial de la Federación.
- Oborny, B., Kun, A. (2002). Fragmentation of clones: How does it influence dispersal and competitive ability?. Países Bajos: Springer Netherlands, pp. 97-124.
- Olguín, E. J., Sánchez-Galván, G. (2012). Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology*, 39(1), pp. 3-8.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (1995). Environmental health criteria 165. Inorganic Lead. Suiza: World Health Organization. Disponible en <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc165.htm>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2010). Exposure to lead: A major public health concern. Suiza: WHO Document Production Services. Disponible en <http://www.who.int/ipcs/features/lead..pdf>
- Salomons, W., Förstner, U. (1984). Metals in the hydrocycle. Alemania: Springer-Verlag, pp. 212-254.
- Scholz, M. (2011). Wetland systems. Inglaterra: Springer-Verlag London Limited, pp. 1-15.
- SEMARNAT-07-017. (2017). Información adicional al trámite SEMARNAT-07-017 Registro de generadores de residuos peligrosos. México: Diario Oficial de la Federación.
- Sharma, S., Singh, B., Manchanda, V. K. (2015). Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environ Sci Pollut Res*, 22, pp. 946-962.
- Shu, W. S., Ye, Z. H., Lan, C. Y., Zhang, Z. Q., Wong, M. H. (2002). Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environmental Pollution*, 120, pp. 445-453.
- Sposito, G. (2008). The chemistry of soils. 2a. ed. Estados Unidos: Oxford University Press, pp. 3-34.
- United Nations Environment Programme (UNEP). (2002). Phytoremediation: An Environmentally Sound Technology for Pollution Prevention, Control and Remediation. Disponible en <http://www.unep.or.jp/ietc/Publications/Freshwater/FMS2/index.asp>

- United States Department of Agriculture-Natural Resources Conservation Service (USDA-NRCS). (2006). Plant Guide: Southern Cattail, *Typha domingensis* Pers. Estados Unidos: USDA-NRCS, pp. 4.
- Vibrans, H. (ed.). (2009). Malezas de México: *Bidens pilosa* L. México: CONABIO. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/bidens-pilosa/fichas/ficha.htm>
- Vibrans, H. (ed.). (2009). Malezas de México: *Typha domingensis* Pers. México: CONABIO. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/typhaceae/typha-domingensis/fichas/ficha.htm>
- Wang, X., Liu, Y., Zeng, G., Chai, L., Xiao, X., Song, X., Min, Z. (2008). Pedological characteristics of Mn mine tailings and metal accumulation by native plants. *Chemosphere*, 72, pp. 1260–1266.
- Ware, G. W. (1998). Reviews of environmental contamination and toxicology. Estados Unidos: Springer Science+Business Media New York, pp. 53-94.
- Willey, N. (2007). Phytoremediation. Methods and Reviews. Estados Unidos: Humana Press Inc., pp. 104.
- Yadav, A. K., Abbassi, R., Kumar, N., Satya, S., Sreekrishnan, T. R. (2012). The removal of heavy metals in wetland microcosms: Effects of bed depth, plant species, and metal mobility. *Chemical Engineering Journal* 211–212, pp. 501–507.
- Yang, S., Liang, S., Yi, L., Xu, L., Cao, J., Gou, Y., Zhou, Y. (2014). Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings. *Front. Environ. Sci. Eng.*, 8(3), pp. 394–404.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L. Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368, pp. 456-464.
- Zayed, A., Gowthaman, S., Tery, N. (1998) Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: I. Duckweed. *Journal of Environmental Quality*, 27(3), pp. 715-721.
- Zhang, L. Y., Ye, W. H., Feng, H. L. (2004). *Mikania micrantha* H. B. K. in China – an overview. *European Weed Research Society Weed Research*, 44, pp. 42–49.
- Zou, T., Li, T., Zhang, X., Yu, H., Huang, H. (2012). Lead accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing in a lead-zinc mine tailing. *Environ Earth Sci*, 65, pp.621–630.