



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores

Cuautitlán

Efecto de algunos ligantes sobre la fitoextracción de Cd, Cu, Pb
y Zn en jales mineros por *Festuca arundinacea*

Tesis

Tesis para obtener el título de:

Licenciado en Química

Presenta:

Oscar Eduardo Nava Rivera

Asesor:

Dr. Arturo Aguirre Gómez

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2021



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.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, el Dr. Arturo Aguirre, por sus enseñanzas, consejos y correcciones en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Frida León, al Dr. Julio Morales, a la M. en C. Elizabeth Cruz y al Q.F.B. Rodrigo González por sus comentarios, observaciones y correcciones en la elaboración de este trabajo.

A la I.A. Laura Margarita Cortazar Figueroa, por su apoyo en la realización y agilización de los tramites administrativos del proceso de titulación.

A mis compañeros Alan y Fabiola por su ayuda en la realización de este trabajo.

A Joseline, Margarita y Oscar por su ayuda en la realización de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN DEL TRABAJO	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. ANTECEDENTES	2
1.2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	3
1.3. MARCO TEÓRICO	3
1.3.1. <u>Minería y metalurgia</u>	3
<i>Minería en México</i>	
1.3.2. <u>Metales, suelo, toxicidad y salud</u>	4
<i>Afecciones de los metales para la salud</i>	
1.3.3. <u>Técnicas de fitoremediación: Fitoextracción</u>	7
1.3.4. <u>Plantas hiperacumuladoras</u>	10
1.3.5. <u>Metales susceptibles de la fitominería</u>	11
1.3.6. <u>Fitoextracción: Asistencia con ligantes</u>	12
1.3.7. <u>Técnicas de beneficio en fitominería</u>	16
1.4. OBJETIVO GENERAL	18
<i>Objetivos particulares</i>	
1.5. HIPÓTESIS	18
2. METODOLOGÍA	19
2.1. PROPUESTA GENERAL DE LA EXPERIMENTACIÓN	19
2.2. LUGAR DE LA EXPERIMENTACIÓN	21
2.3. MATERIALES	21
2.4. SOLUCIONES Y REACTIVOS	22
2.5. EQUIPOS E INSTRUMENTOS	23
2.6. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	23
2.6.1. <u>Caracterización del jal minero</u>	23
2.6.2. <u>Preparación del jal minero</u>	23
2.6.3. <u>Preparación de los tratamientos de estudio (jal minero y suelo)</u>	23
2.6.4. <u>Germinación de las semillas de pasto</u>	25
2.6.5. <u>Siembra y acondicionamiento de <i>Festuca arundinacea</i></u>	25
2.6.6. <u>Fertilización del jal</u>	26
2.6.7. <u>Riego y poda</u>	26
2.6.8. <u>Tratamiento de la biomasa</u>	28
2.6.9. <u>Digestión ácida total de la biomasa</u>	29
2.6.10. <u>Cuantificación de metales fitoextraídos</u>	29
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1. CARACTERIZACIÓN DEL JAL	32
3.2. BIOMASA PRODUCIDA POR <i>FESTUCA ARUNDINACEA</i>	33

3.2.1.	<u>Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de los ligantes en el tiempo sobre la producción de biomasa</u>	33
3.2.2.	<u>Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la producción de biomasa</u>	40
3.3.	FITOEXTRACCIÓN DE COBRE	46
3.3.1.	<u>Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de los ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Cu</u>	46
	–	46
3.3.2.	<u>Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Cu</u>	53
3.4.	FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO	60
3.4.1.	<u>Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de los ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Pb</u>	60
	–	60
3.4.2.	<u>Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Pb</u>	66
3.5.	FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO	74
3.5.1.	<u>Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de los ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Cd</u>	74
	–	74
3.5.2.	<u>Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Cd</u>	81
3.6.	FITOEXTRACCIÓN DE ZINC	88
3.6.1.	<u>Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de los ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Zn</u>	88
	–	88
3.6.2.	<u>Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Zn</u>	95
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	107
5.	REFERENCIAS	109
6.	ANEXOS	114

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ác. Sal.- Ácido salicílico

Ác. Pic.- Ácido picolínico

Ác. Ox.- Ácido oxálico

CDTA- Ácido trans-1,2-diamino ciclohexano-N, N, N', N'-tetraacético monohidratado.

Cit.- Citrato de sodio

DE- Desviación estándar

DTPA- Ácido dietilentriaminopentaacético

EDTA- Ácido etilendiaminotetraacético

IDA- Ácido iminodiacético

MO- Materia orgánica

NTA- Ácido nitriloacético

P1,P2, P3 y P4- Podas (1, 2, 3 y 4)

t0- tiempo cero

RESUMEN DEL TRABAJO

Actualmente la fitoextracción es una de las ramas más estudiadas y prometedoras en la limpieza de los suelos contaminados por metales pesados, por ello, el desarrollo de nuevos experimentos referentes a la materia es imprescindible en la investigación científica con la finalidad de mejorar los métodos ya existentes o proponer nuevos a esta disciplina.

En el presente experimento se trabajó con el pasto *Festuca arundinacea*, la cual fungió como la planta fitoextractora de metales, y con los siguientes nueve ligantes: EDTA, CDTA, DTPA, IDA, NTA, ácido salicílico, ácido oxálico, ácido picolínico y citrato de sodio, los cuales fungieron como los mejoradores y sinérgicos químicos en el proceso de fitoextracción de los metales. Se trabajaron tratamientos en 3 réplicas para el blanco, el testigo, el EDTA, el citrato de sodio, el ácido oxálico y el ácido salicílico, y tratamientos de sólo una réplica para el CDTA, el DTPA, el IDA, el NTA y el ácido picolínico (buscando en estos últimos candidatos para investigaciones venideras). El experimento constó de crecer las plantas de pasto, a las que se le aplicaron 4 podas y 4 adiciones de ligantes, lo anterior a partir de un tiempo cero, y en intervalos de 15 días entre cada poda y adición de ligantes

La materia vegetal obtenida de las podas se secó, molió y digestó en el laboratorio y se obtuvieron a los metales fitoextraídos por el pasto de manera soluble y en medio ácido. Se utilizó la voltimetría como método de cuantificación de los metales fitoextraídos y a partir de los datos antes cuantificados se realizaron cálculos para establecer la existencia de diferencias significativas entre tratamientos, concentración de metal obtenida (ppm) y la cantidad de metal total (μg).

De manera general se obtuvo que el EDTA en todas sus concentraciones, el ácido oxálico, en 1 y 5 mmol/kg, y el ácido salicílico, en 1 y 3 mmol/kg, fueron ligantes significativamente más efectivos para la fitoextracción de cobre, plomo y cadmio, ya que sus tratamientos sí promovieron de mejor manera la cantidad de metal extraído a comparación con del testigo. Por otro lado, el DTPA y el ácido oxálico ambos en 1 mmol/kg fueron más efectivos en la fitoextracción de zinc en comparación con el testigo.

De los estudios realizados en este trabajo, se concluyó que el pasto de *Festuca arundinacea* se comportó como una planta tolerante a los metales pesados y funcionó en el proceso de fitoextracción, en conjunto con el EDTA promovió de manera muy efectiva la fitoextracción de metales, por su parte con el ácido salicílico, el DTPA y el ácido oxálico lo hicieron también en menor medida que con el EDTA, y también resultaron significativamente diferentes al tratamiento testigo.

1. INTRODUCCIÓN

Los procesos mineros, y sus diversos tratamientos en la cadena de obtención de minerales, son una de las principales fuentes de contaminación para los suelos debido a que dichos procesos afectan directamente la fertilidad y el desarrollo de vida en los suelos mineros residuales, y sus alrededores en las zonas de afectación. En México, las actividades industriales mineras se han llevado a cabo desde principios del siglo XVI, estas actividades en la antigüedad no contaban con ninguna clase de regulación o control ambiental, y como consecuencia, hoy en día existen una cantidad incierta de residuos mineros en el territorio nacional, además de diversas problemáticas ambientales derivadas de la minería (Salas, 2014).

Con el fin de contribuir a la búsqueda de remediar el problema de contaminación de suelos debido a los metales pesados, en la última década se han realizado diversas investigaciones en las áreas de agronomía, edafología, química y fisiología vegetal, entre otras, y así, han surgido una serie de tecnologías emergentes de limpieza del suelo y jales mineros, denominada fitoremediación, es decir usar plantas para descontaminar suelos. Una rama de la fitoremediación es la fitoextracción, que es una técnica de limpieza de suelos *in situ*, basada en el uso de plantas con la habilidad de acumular metales en elevada concentración (hiperacumulación) y guardarlos en diversos órganos y tejidos, sin sufrir consecuencias fatales, y con la posibilidad de extraer dichos metales del suelo a través de la planta (Chaney *et al.* 2000 y Quartacci, 2007). De esta manera, cuando determinadas especies vegetales hiperacumulan algún metal en cantidades significativas (arriba de las 1000 ppm), puede incluso optarse por la así denominada Fitominería, que no sólo limpia el suelo del metal en cuestión, sino que lo beneficia, adicionando un valor agregado al proceso de fitoextracción. A partir de esta idea, se han probado diversas estrategias, dentro de las cuales deben mencionarse las de agroestabilización de suelos y jales mineros, con biocarbón, fertilizantes, e inclusive ligantes que favorezcan el proceso de crecimiento y fitoextracción de la plantación en operación.

1.1. ANTECEDENTES

Algunas de las técnicas de remediación del suelo más comúnmente usadas son: el lavado del suelo, la solidificación/estabilización del suelo, la vitrificación y los tratamientos térmicos, estos tratamientos están basados en técnicas *ex situ* y sus características son la remoción de los suelos contaminados, su traslado a plantas de tratamiento y su posterior lavado con sustancias químicas para la remoción de los metales contaminantes, finalmente el vertido de regreso del suelo ya descontaminado a su lugar de origen, estas son técnicas muy efectivas, pero muy costosas, no aplicables a grandes áreas y con el riesgo de dañar la estructura del suelo y la ecología, entre otras. La inmovilización de los metales pesados en el suelo por adición de carbonatos o fosfatos de calcio también es sugerida como una técnica de remediación, con la ventaja de reducir riesgos de manera inmediata, pero con la desventaja de ser técnicas en las cuales los metales no son removidos del suelo en ningún momento (Chhotu. *et al.* 2009).

1.2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Hoy en día, los seres humanos enfrentan un reto que afecta seriamente al planeta, "la contaminación", actualmente existen muchos contaminantes orgánicos e inorgánicos en los suelos, las aguas y el aire del planeta, dichos contaminantes muchas veces residuos de la actividad industrial, son sustancias susceptibles a la degradación biológica, pero cuando se trata de metales pesados hay un problema, y es que los metales pesados no pueden ser degradados y tienden a acumularse en los organismos vivos (Chen, 2013).

Los métodos de fitoremediación tienen como propósito limpiar los suelos de contaminantes metálicos para devolverles la fertilidad y que puedan ser utilizados como fuentes de recursos naturales. El experimento planeado es una propuesta de mejora a las metodologías ya existentes de fitoextracción de metales pesados, además se busca la proyección de una propuesta a largo plazo como método rentable de fitominería y remediación de suelos contaminados. El punto clave del experimento se basa en el uso de ligantes como mejoradores químicos, que abren la opción a la posibilidad de la hiperacumulación por parte del material vegetal que naturalmente no cuenta con esta característica sobre los metales. Con la adición de ligantes al medio de crecimiento se busca que estos complejen a los metales solubilizándolos y por ende haciendo más fácil su absorción y acumulación vía acuosa en la planta.

1.3. MARCO TEÓRICO

1.3.1. Minería y metalurgia

La minería es una actividad que consiste en la extracción de minerales presentes en el suelo y/o subsuelo, y la metalurgia es la encargada de extraer los metales a partir de los minerales y transformarlos en metales con valor monetario significativo. Spitz & Trudinger (2009) hablan acerca de la minería y de sus procesos derivados, haciendo énfasis en la importancia de estos en el actual desarrollo tecnológico del que hoy en día somos parte. Sin la minería la civilización como la conocemos hoy en día no existiría, esta actividad es una de las más antiguas realizadas por el hombre que data desde la era prehistórica y a lo largo del tiempo ha ayudado a la humanidad a conseguir alimento y abrigo, proporcionarse defensa, mejorar capacidades de caza, proveer metales preciosos y monedas de cambio, habilitar transporte, crear fuentes de calor y energía, entre otras.

La minería y la metalurgia han sido claves para el desarrollo tecnológico e industrial a lo largo del tiempo y hoy en día gran parte de las actividades económicas dependen de las actividades minero-metalúrgicas en el mundo, sin embargo así como la demanda de metales crece día a día, los residuos generados por estas industrias también crecen, convirtiéndose en un problema ambiental cada vez más serio.

Minería en México

En México las actividades industriales mineras se han llevado a cabo desde principios del siglo XVI, dichas actividades en la antigüedad no contaban con ninguna clase de

regulación o control ambiental, y como consecuencia hoy en día existen una cantidad incierta de residuos mineros en el territorio nacional además de diversas problemáticas ambientales derivadas de la minería (Salas, 2014).

Actualmente la producción minera en México se concentra en trece Estados: Chihuahua, Jalisco, Michoacán, Zacatecas, Durango, Sonora, Coahuila, Guanajuato, San Luis Potosí, Hidalgo, Sinaloa, Colima y Guerrero, de los cuales se extraen minerales y metales, tales como: la barita, el cobre, la fluorita, el coque, el oro, la plata, el plomo, y el zinc, entre otros (INEGI, 2019).

1.3.2. Metales, suelo, toxicidad y salud

Hoy en día los seres humanos enfrentan un reto que afecta seriamente al planeta, la contaminación, Chen (2013) explica que actualmente existen muchos contaminantes orgánicos e inorgánicos en los suelos, aguas y aire del planeta, estos muchas veces son residuos de la actividad industrial, y a pesar de esto dichas sustancias son susceptibles a la degradación biológica, pero cuando se trata de metales pesados hay un problema, y es que estos no pueden ser degradados y tienden a acumularse en organismos vivos. Estos contaminantes metálicos a menudo provienen de algunas industrias como la electrónica, de metalizado, de pinturas, de joyería, de curtiduría, de extracción y producción de petróleo, de manufactura de autos, por mencionar algunas. Los metales pesados se encuentran naturalmente en rocas y minerales, de donde son extraídos y liberados al medio ambiente cuando se lleva a cabo la actividad minera.

Los procesos mineros y sus diversos tratamientos para la obtención de minerales son una de las principales fuentes de contaminación para los suelos, debido a que dichos procesos afectan directamente la fertilidad y desarrollo de vida en los suelos mineros residuales y sus alrededores. Salas (2014) explica que los residuos mineros son conocidos como "jales", los jales son generados durante los procesos de extracción de metales a partir de minerales metalíferos, y estos pueden llegar a contener concentraciones elevadas de elementos potencialmente tóxicos. Actualmente los jales son almacenados en pilas o presas cerca de las minas y pueden encontrarse expuestos a la atmósfera o cubiertos de agua y/o vegetación, en los jales se puede llegar a generar un pH en el suelo de hasta 2 unidades a causa de las reacciones redox llevadas a cabo por los metales en el suelo, dichas reacciones producen acidez y a su vez la lixiviación de los metales. El proceso de lixiviación depende totalmente del pH del suelo porque a valores de pH ácidos tienden a prevalecer especies solubles (móviles), mientras que a valores de pH neutros o ligeramente básicos las especies se van volviendo insolubles (inmóviles), pero a valores de pH extremadamente básicos se pueden llegar a redissolver las especies insolubles, como ejemplo de este fenómeno se puede mencionar el caso de los hidroxocomplejos de aluminio.

Aunado a los problemas antes mencionados algunas otras actividades que dañan los suelos son: la producción agrícola descontrolada, las actividades de crianza de ganado, los derrames de reactivos industriales peligrosos, los fertilizantes, los plaguicidas, las aguas residuales no tratadas, etc.

Un dato expuesto por Zacarías *et al.* (2010) acerca de la contaminación en México dice que existen tres fuentes principales de contaminación, las industrias petroquímica, química y metalúrgica, las cuales producen aproximadamente más de la mitad de la contaminación en suelos, agua y aire. Se estima que cerca de 25,967 Km² de suelo han sido degradados por la contaminación, esto corresponde a 1.32 % del territorio mexicano.

Otro dato significativo acerca de la contaminación por los metales pesados proviene de China, Wang *et al.* (2016) explica que el Ministerio de Protección Ambiental de ese país, estima cerca de 26 millones de hectáreas de suelo agrícola contaminadas por As, Pb, Zn, Cr, Hg y Cu.

Afecciones de los metales para la salud

Muchos metales y metaloides como Cu, Co, Se, Fe, Mo, Mn, Ni y Zn tienen actividad biológica, en la flora por ejemplo son nutrientes esenciales para su crecimiento y en los mamíferos la mayoría de los metales actúan como cofactores de las enzimas catalizando reacciones metabólicas, cabe mencionar que dichos elementos se encuentran en concentraciones bajas en los organismos vivos. Por otro lado a metales y metaloides tales como el Cd, Hg, As y Pb no se les conoce actividad fisiológica benigna y pueden llegar a ser perjudiciales para la vida.

Según lo reportado por Chen (2013), dosis elevadas de metales pesados en el organismo pueden traer como consecuencia la reducción o daño de las funciones nerviosas centrales y mentales, bajos niveles de energía, daño en la composición de la sangre, los pulmones, el hígado, los riñones y otros órganos vitales. La exposición a largo plazo a metales pesados puede causar diversos tipos de cáncer, enfermedad de Párkinson, distrofia muscular, esclerosis múltiple y procesos neurológicos degenerativos. Los metales pesados son especialmente peligrosos para el ser humano por las siguientes razones:

- Los metales con alto estado de oxidación pueden formar fácilmente precipitados insolubles con diversas sustancias aniónicas presentes en el cuerpo (SO_4^{2-} , CO_3^{2-} y PO_4^{3-}). Dichos precipitados pueden permanecer en el cuerpo humano.
- Los metales pueden ser adsorbidos sobre grupos funcionales que formen parte de tejidos humanos, por ejemplo enzimas.
- Algunos metales pesados pueden causar reacciones redox, cambiando la química de otros elementos, por ejemplo el carbono que es parte esencial de la mayoría de los tejidos en el cuerpo humano.

Cuando en el suelo hay concentraciones en exceso de metales pesados como Cu, Cd, Pb y Zn, estos pueden causar efectos adversos para las plantas, los microorganismos, la vida salvaje, el ganado e incluso los seres humanos. Algunas de las vías de transporte de los metales a organismos vivos pueden ser: la ingestión del suelo contaminado, la ingestión de alimentos o plantas contaminados por animales los cuales son parte de la cadena trófica o inclusive el consumo de agua contaminada. En el caso de la contaminación del agua los metales presentan mayor riesgo al encontrarse en su forma de iones libres.

- Cd

El cadmio es un metal pesado que produce efectos tóxicos en los organismos vivos aún en concentraciones muy pequeñas. Es un competidor nato del zinc en muchos procesos enzimáticos en los que el zinc es protagonista, esto debido a que ambos tienen una química muy similar y muchas veces en las reacciones bioquímicas no se logra la diferenciación entre uno y otro. Esa competencia presenta el riesgo de reemplazo del zinc por el cadmio o incluso mercurio.

Chen (2013) explica el medio más común de ingesta de cadmio, así como algunas afecciones a los seres humanos. Fumar tabaco es una de las principales fuentes de acumulación de cadmio en el organismo porque cada cigarrillo contiene alrededor de 1 a 2 µg de Cd, este entra por la corriente principal de humo y se absorbe comúnmente en los pulmones, riñones e hígado. Se cree que el Cd se acumula en los organismos vivos debido a que se enlaza fuertemente con las metalotioneínas que se sintetizan en los riñones, así una exposición a concentraciones elevadas de Cd puede traer como consecuencia padecimientos tales como la disfunción renal, la degeneración ósea o daños en la sangre.

Wang *et al.* (2016) exponen algunas afecciones del cadmio en plantas, este metal cuando está en exceso interfiere con el correcto funcionamiento de diversas enzimas afectando principalmente al proceso de fotosíntesis. En concentraciones mayores a 25 mg/kg las plantas como consecuencia empiezan a manifestar una inhibición del crecimiento.

- Cu

El cobre es un elemento esencial para los mamíferos, pero en altas concentraciones es perjudicial, ya sea en su forma libre (Cu^{2+}) o como sal. Este metal puede entrar al organismo a través de la comida, del polvo o del agua principalmente.

La intoxicación por cobre es descrita por Chen (2013), ésta no es letal en términos generales, sus síntomas son: vómito, diarrea, calambres intestinales, sangrados gastrointestinales, taquicardias, náuseas, insuficiencia renal, entre otras. Una exposición crónica a este metal o a grandes cantidades, por ejemplo más de 10 gramos puede tener como consecuencia necrosis hepática, anemia hemolítica, cáncer de hígado, colapso vascular e inclusive la muerte. Zacarías *et al.* (2010) explica que el Cu a pesar de ser un nutriente para las plantas si se encuentra en exceso también llega a tener efectos negativos sobre ellas, por ejemplo una reducción en la respiración mitocondrial, daños en los cloroplastos, clorosis, cierre de los estomas y una baja transpiración, así como bajo rendimiento fotosintético.

- Pb

El plomo es un metal extremadamente tóxico para los organismos vivos debido a su alta afinidad para enlazarse con grupos tiol y fosfato. Chen (2013) habla sobre los efectos nocivos del plomo para la salud humana. El plomo una vez dentro de los organismos inhibe la biosíntesis y por lo tanto afecta la permeabilidad de la membrana de las células renales, hepáticas y cerebrales, esto lleva a un paulatino desgaste de los órganos. Algunos de los efectos adversos que presenta el plomo para los humanos son: problemas de audición y equilibrio, dolores de cabeza, intoxicación de la sangre (10 µg/dL), pérdida de memoria, y en niños una consecuencia grave es el bajo coeficiente intelectual. En

mujeres embarazadas la presencia de plomo afecta directamente al feto, incluyendo riesgos como son: abortos espontáneos, reducción del tiempo de gestación y bajo peso en los infantes al nacer.

Hace algunos años el plomo era un metal usado por la mayoría de las industrias, y muchos de los productos de uso común lo contenían, pero debido a su toxicidad actualmente se ha ido aminorando y/o discontinuando su utilización en productos de uso común. Las fuentes de contaminación por plomo que más afectaban a los seres humanos eran: el uso de pinturas a base de este metal, las emisiones de los autos, los pigmentos sintéticos, los aerosoles, etc. A pesar del desuso o reemplazo de los productos que contenían plomo aún se pueden encontrar fuentes de plomo a las que se puede estar expuesto cotidianamente, como por ejemplo: beber agua de tuberías viejas, exposición a esmaltes o pinturas cerámicas, exposición a gasolinas, y exposición a procesos de soldadura y fundición, entre otros.

- Zn

Chen (2013) expone algunas de las afecciones del zinc en los humanos, es un metal utilizado como micronutriente esencial para los organismos vivos, sin embargo cantidades excesivas de zinc (inhulado en vapores o ingerido en agua y/o alimentos) puede causar deterioro en el crecimiento a edades tempranas o dificultades en la reproducción. Algunos síntomas de la intoxicación aguda por zinc incluyen: náusea y vómito, dolor epigástrico, calambres estomacales, diarrea con sangre, sangrado al orinar, etc. La exposición crónica puede causar anemia, daño pancreático y bajos niveles de colesterol lipo-proteico de alta densidad.

La exposición a este metal proviene de actividades antropomórficas, por ejemplo: la minería, la producción de aceros, la quema de carbón y la quema de basura, entre otras.

1.3.3. Técnicas de fitoremediación: Fitoextracción

Algunas de las técnicas de remediación del suelo más comunes son el lavado del suelo, solidificación/estabilización del mismo, vitrificación y los tratamientos térmicos. Chhotu *et al.* (2009) explican que estos tratamientos están basados en técnicas *ex situ* y sus características son la extracción de los suelos contaminados, su traslado a laboratorios y posterior lavado con sustancias químicas para la remoción de los metales contaminantes, y finalmente el vertido de regreso del suelo ya descontaminado a su lugar de origen, estas son técnicas muy efectivas, pero muy costosas, no aplicables a grandes áreas y con riesgo de dañar la estructura del suelo y la ecología. La inmovilización de los metales pesados en el suelo por adición de carbonato de calcio o fosfatos de cal también es sugerida como una técnica de remediación, con la ventaja de reducir riesgos de manera inmediata, pero con la desventaja de ser técnicas temporales, ya que los metales no son removidos del suelo en ningún momento.

Las técnicas para el tratamiento de suelos contaminados son necesarias para salvaguardar los recursos de la tierra y proteger la salud humana, como consecuencia a dicho problema a partir de la última década se han realizado diversas investigaciones en las áreas de agronomía, edafología, química y fisiología vegetal, y así ha surgido una tecnología de limpieza emergente denominada fitoremediación, esta es aplicable a suelos,

sedimentos o aguas. Se han desarrollado también algunos subconjuntos de la técnica, los cuales son: la fitoextracción, la fitominería, la fitoestabilización, la rizofiltración y la fitovolatilización.

La fitoextracción es una técnica de limpieza de suelos *in situ* basada en el uso de plantas con la habilidad de acumular metales en elevada concentración y resguardarlos en sus órganos, las características más importantes que se buscan en las plantas usadas en fitoextracción son una alta producción de biomasa y un rápido índice de crecimiento. El pH del suelo en este tipo de procedimientos juega un rol sumamente importante, ya que la mayoría de las plantas no pueden crecer y desarrollarse en suelos muy ácidos o altamente básicos, aunque tampoco crecen necesariamente a valor de pH =7, en general una planta se puede desarrollar de manera adecuada en un intervalo de valores de pH que oscile de 5 a 8. La elección del proceso es compleja, ya que depende de la especie de la planta, clima, tipo de suelo, etc. (Ma *et al.* (2016), Chaney *et al.* (2000), Lasat (2002), Chhotu *et al.* (2009) y Quartacci (2007)).

Cuando en el suelo hay metales pesados estos están presentes como diversas especies químicas dependiendo del valor de pH del suelo, pero no todas las especies están disponibles para ser absorbidas, únicamente las que se encuentren en la fracción soluble. El pH del suelo juega un papel imprescindible para tener disponibles especies que la planta sea propensa a absorber y al mismo tiempo que la planta en dicho pH se desarrolle correctamente.

Existe un parámetro conocido como coeficiente de acumulación / translocación, según lo descrito por Medina y Montano (2014) este se utiliza para determinar si una planta puede catalogar como hiperacumuladora o no, y se representa con la siguiente ecuación:

$$\text{Coef. de acumulación} = \frac{\text{Conc. en los tejidos aéreos de la planta} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}}\right)}{\text{Conc. en las raíces de la planta} \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}}\right)}$$

Si el coeficiente de acumulación es mayor o igual a 1 se sugiere que la planta es hiperacumuladora, en cambio si se obtiene un coeficiente de acumulación menor a 1 se dice que la planta no es acumuladora. Las plantas que presentan valores menores a 1 pueden ser usadas como fitoestabilizadores y rizofiltradoras, por su capacidad de retener metales en sus raíces.

El éxito de la fitoextracción como técnica de limpieza depende de diversos factores según explica Ernst (1996), dichos factores son: la extensión del suelo contaminado (técnica viable para trabajar remediación a gran escala), disponibilidad del metal para ser absorbido por las raíces, y lo más importante, la habilidad de la planta para interceptar, absorber y acumular al metal en su parte aérea.

Los métodos de fitoremediación pueden tener algunos puntos en contra que se deben considerar y estudiar con antelación en caso de querer realizarse un proyecto de este tipo, por ejemplo: el tiempo de crecimiento de las plantas, el tiempo proyectado para

finalizar la extracción, la temporada en que se harán crecer las plantas, las veces que se podarán, los procesos posteriores a los que se someterán las muestras extraídas en la fitoextracción, entre otras.

La fitominería no difiere en gran parte de la fitoextracción, la única diferencia es que se busca extraer metales del suelo con elevado valor comercial, ya sea desde un suelo contaminado o uno rico en el metal deseado.

La fitoestabilización también llamada “inactivación *in situ*” es usada principalmente para la remediación de sedimentos y lodazales, esta se basa en la capacidad de las raíces de las plantas para retener los metales pesados y así limitar su movilidad y biodisponibilidad en el suelo. La fitoestabilización puede ocurrir a través de la sorción, precipitación o complejación del metal y una de sus ventajas es que inmoviliza a los metales muy rápidamente.

La rizofiltración es usada para la fitoremediación de aguas subterráneas, aguas superficiales y aguas residuales con bajas concentraciones de contaminantes, en esta técnica se usan tanto plantas terrestres como acuáticas, las cuales absorben, concentran y precipitan los metales pesados en sus raíces. La ventaja de usar esta técnica es que se puede realizar *in situ* o *ex situ*, ya sea con plantas terrestres o acuáticas.

Por su parte la fitovolatilización involucra el uso de plantas que absorban contaminantes del suelo, los transformen en formas volátiles y los transpiren a la atmósfera. El metal más probado con este método es el mercurio, por ejemplo en el caso del metilmercurio las plantas transforman el Hg^{2+} a Hg^0 disminuyendo su alta toxicidad.

La fitoextracción es una de las técnicas que actualmente está en auge para la rehabilitación de suelos contaminados por metales pesados, y se le puede considerar como una “técnica verde” de remediación del suelo, además uno de los mayores beneficios de este procedimiento es que el costo para llevarlo a cabo es mucho más bajo que el de las tecnologías actuales para la limpieza del suelo.

En Estados Unidos han emergido muchas compañías en la rama de la fitoextracción ya que este es uno de los países donde esta técnica ha tenido mayor crecimiento y demanda en los últimos años, como ejemplo Lombi *et al.* (2001) expone que en el año 1997 el mercado de la fitoextracción fue valuado en \$1-2 millones de dólares y en 2005 ya había crecido hasta los 70-100 millones de dólares. Evangelou *et al.* (2007) reporta también datos acerca de los ingresos adquiridos por la fitoextracción en dos países y Europa:

Tabla 1. Comparación de ingresos generados por la fitoextracción en el año 1999.

País	Ingreso (millones de dólares)
Canadá	\$1-2
Europa(varios países del continente)	\$2-5
Estados Unidos	\$30-49

Al hablar de la fitoextracción enseguida vienen al tema las plantas ya que son parte del método, y un problema que se encuentra comúnmente al trabajar con plantas hiperacumuladoras es que son pequeñas y de crecimiento lento, por esto diversos investigadores coinciden en que las plantas usadas en fitoextracción se podrían mejorar por medio de la ingeniería genética, confiriéndoles así a las plantas hiperacumuladoras por ejemplo, una mayor producción de biomasa y un crecimiento más rápido, así como también a plantas tolerantes poder darles una mayor capacidad de hiperacumular metales o hiperacumular cierto metal selectivamente. Algunos ejemplos de la propuesta anterior que ya se han usado son:

- La creación de plantas transgénicas que desintoxican suelos del compuesto metilmercurio, un agente neurotóxico muy potente, por medio de su conversión de Hg^{2+} a Hg^0 (Lasat, 2002).
- La mejora genética sobre la especie *Brassica juncea* para llevar a cabo una mejor fitoextracción de selenio de suelos contaminados por Pilon-Smits *et al.* (1999).
- La modificación de *Brassica juncea* para la fitoextracción de cadmio, sobreexpresando el gen *gsh1* de *E.coli* logrando concentrar en la parte aérea más del 90% de Cd que las hiperacumuladoras de Cd naturales por Zhu *et al.* (1999).

1.3.4. Plantas hiperacumuladoras

Existen gran cantidad de especies de plantas en el mundo, Zacarías *et al.* (2010) explican que algunas de ellas naturalmente logran acumular gran cantidad de ciertos metales pesados en sus tejidos sin tener ninguna consecuencia, a estas se les denomina “plantas hiperacumuladoras”, por el contrario podemos encontrar plantas que a la menor exposición a metales pesados se ven severamente afectadas en su ciclo de vida o llegan a morir intoxicadas (plantas sensibles e indicatoras). Las plantas acumuladoras pueden llegar a retener metales hasta 100 veces más que las no acumuladoras en su biomasa aérea.

Además de las antes mencionadas, también existen plantas que si bien no acumulan metales tampoco mueren ante la exposición a ellos, a dichas plantas se les denomina “tolerantes”, es decir pueden acumular cierta cantidad de metales en sus tejidos sin morir, pero no almacenan gran cantidad. Este tipo de plantas al crecer en ambientes contaminados tienden a presentar defectos físico-morfológicos como enanismo, menor producción de biomasa, menores dimensiones en tallo, mala fisonomía y distribución de sus raíces, etc.

Aún no se conoce función alguna para el fenómeno de acumulación de metales por las plantas, sin embargo Evangelou *et al.* (2007) plantean la hipótesis de que es resultado de un mecanismo de defensa en contra de patógenos y para evitar la depredación.

Como un dato estadístico Baker *et al.* (2000) exponen que aproximadamente 400 especies de plantas de al menos 45 familias son hiperacumuladoras. La mayor parte de estas especies hiperacumulan Ni, aproximadamente 30 acumulan Co, Cu o Zn, en el caso

del Mn y Cd pocas especies los hiperacumulan, y en el caso del Pb no se conocen datos de que existan plantas hiperacumuladoras de dicho metal.

Los pastos utilizados como acumuladores de metales son actualmente una rama de investigación en desarrollo, ya que a comparación con otras plantas estos son productores de mayor cantidad de biomasa en menor tiempo, más fáciles de podar y en algunos casos acumuladores flexibles de metales, esto quiere decir que puedan acumular diversos metales en concentraciones considerables. Una de las nuevas técnicas desarrolladas para aprovechar en mayor medida los pastos es utilizar mezclas de distintas especies de pastos que acumulen metales en un mismo medio de crecimiento.

A la acumulación de niveles elevados de iones metálicos en las plantas se le denomina fitotoxicidad, y la mayoría de las plantas han desarrollado mecanismos para defenderse contra este padecimiento que afecta principalmente su proceso de fotosíntesis. La tolerancia a los metales resulta de dos estrategias básicas según lo descrito por Lasat (2002): la exclusión y la desintoxicación. En la exclusión, los excluyentes previenen la acumulación de metales en las raíces y favorecen la translocación y acumulación de metales en la parte aérea. La desintoxicación se lleva a cabo cuando el metal se encuentra retenido de manera intracelular (principalmente en la vacuola), en estos casos los metales son posiblemente enlazados a compuestos orgánicos de bajo peso molecular (<10kD) y retirados de la célula por la histidina. Según el estudio antes referido la causa de la tolerancia a la fitotoxicidad por las plantas se debe a una sobreexpresión de las proteínas tolerantes a metales (MTP, por sus siglas en inglés).

Las plantas tienen la capacidad de catalizar reacciones redox cambiando los estados de oxidación y las propiedades químicas de los iones metálicos, evitando de esta manera envenenamientos.

1.3.5. Metales susceptibles de la fitominería

Al llevar a cabo técnicas de fitoremediación no sólo se obtiene como beneficio la extracción de los metales contaminantes del suelo, sino que puede también proyectar una oportunidad de trabajar con la cosecha de las especies (hiper-)acumuladoras de metales con el fin de producir energía, realizar silvicultura, producir biocombustible o la obtención-beneficio de los metales extraídos en forma elemental para su posterior uso en diversas aplicaciones.

La obtención de los metales en forma elemental por medio de estas técnicas es actualmente investigada en todo el mundo debido a que es una forma de minería mucho más amable para el medio ambiente y menos compleja en términos de sus procesos que los métodos de minería tradicionales.

La necesidad de una buena gestión y tratamiento de los residuos metálicos ha incrementado de manera considerable desde hace 10 años debido a tres causas principales:

- La demanda de metales ha incrementado.

- Numerosos estudios han demostrado que muchos problemas de salud están asociados con la presencia de metales pesados en la comida, agua y aire.
- La demanda de una mejor calidad de vida ha aumentado.

Los metales pesados son apreciados por tener buenas características de dureza, maleabilidad, ductilidad y su buena capacidad de conducir la corriente eléctrica. Las industrias que más consumen metales pesados son la de la construcción, electrónica y química, Chen (2013) en su investigación indica que del año 2009 al 2013 el alza en la producción y en precios de metales pesados, subió de manera notable.

- Cd

El cadmio es un metal usado ampliamente en la industria del electro platinado, la soldadura, las baterías, la cerámica, la fotografía, los insecticidas, los pigmentos textiles, los productos derivados del petróleo, los químicos sintéticos, los aparatos electrónicos y actividades metalúrgicas.

- Cu

La demanda de cobre es creciente debido a su aplicación en fabricación de baterías y semiconductores, teléfonos móviles, catalizadores químicos, chips electrónicos, así como en recubrimientos metálicos, entre otros.

- Pb

El plomo es un metal indispensable en la producción de baterías, pigmentos, productos de impresión, acabados en la producción de vidrio, cerámicas, soldaduras, armas, cubiertas para cables, etc. Además este metal es usado en la refinación del petróleo y como atenuante de radiación en diversas industrias.

- Zn

El zinc es uno de los metales de mayor uso en el mundo, se usa en los procesos de galvanizado y para la producción de aleaciones, catálisis, fabricación de equipo aeroespacial, pigmentos para papel, metalurgia, producción de piezas electrónicas, baterías y como antiséptico en medicina, etc.

1.3.6. Fitoextracción: Asistencia con ligantes

La fitoextracción la podemos dividir en dos secciones, la primera es la fitoextracción únicamente basada en el uso de plantas hiperacumuladoras y la segunda es la fitoextracción asistida por la adición de ligantes.

La fitoextracción asistida por ligantes es un punto de interés actual entre las técnicas de remediación del suelo, los ligantes son sustancias capaces de secuestrar a los metales formando complejos con ellos, y estas sustancias químicas una vez adicionadas al medio de crecimiento de las plantas ayudan a mejorar la biodisponibilidad y absorción de los metales contaminantes aumentando así la cantidad de metal en forma soluble y con la

ventaja de no comprometer al suelo cambiando su valor de pH, por ejemplo. En resumen, el objetivo principal de la adición de ligantes es incrementar la cantidad de metal disponible para ser absorbido y translocado a la parte aérea de la planta. Esta mejora química sobre la fitoextracción se ha llevado a cabo desde la última década con resultados muy prometedores, en comparación con la fitoextracción por sí sola.

Existen ligantes producidos por las plantas como lo son los iones oxalato, tartrato, acetato, succinato, citrato, etc., cuya función es actuar como antioxidantes para las mismas, pero que al mismo tiempo intervienen en la absorción de metales en forma de nutrientes y en los procesos de desintoxicación. Con este antecedente se han realizado pruebas con el fin de evaluar si este tipo de ligantes biológicos son capaces de introducir en la planta metales pesados que no tienen función biológica como lo son el Pb o Cd, aunque no suelen ser reconocidos por la planta y por ello no los ingresan a su organismo, o los encapsulan en la vacuola de algunas células de tejidos específicos. Un ejemplo de desintoxicación por medio de ligantes orgánicos se da cuando algún metal sin función biológica como el Cd^{2+} ingresa a la planta, entonces, compuestos orgánicos de bajo peso molecular como el citrato, tienden a ser producidos para reducir la reactividad del catión libre con el fin de posteriormente acumularlo en los brotes sin afecciones negativas a la planta.

Los ligantes biológicos en comparación con los ligantes sintéticos (que no son producidos por la planta) son menos eficaces promoviendo la absorción de metales pesados por la planta, pero son muy efectivos promoviendo la absorción de metales que sirven como nutrientes (incluso en grandes cantidades), además son fácilmente degradables en CO_2 y agua evitando el fenómeno de lixiviación en mayor medida. Lombi *et al.* (2000) presentan algunos de los ligantes sintéticos más utilizados y estudiados en la fitoextracción: EDTA, CDTA, EDDS, DTPA, EGTA, EDDHA, y NTA, todos ellos polidentados; dos importantes ventajas que presentan los ligantes sintéticos es que son solubles en agua, además de tener la capacidad de formar complejos a lo largo de diversas unidades de pH poseyendo un amplio campo de acción, sea cual sea el pH del medio de crecimiento de las plantas.

Algunos puntos en contra que tiene el uso de ligantes sintéticos es que pueden llegar a ser costosos y en algunos casos perjudiciales para el suelo cuando estos no son fácilmente biodegradables, aunque estas sustancias mejoran la absorción de metales también incrementan el fenómeno de lixiviación de los mismos al hacerlos solubles. Existe también un factor a considerar al trabajar la fitoextracción asistida por ligantes, y es que el tiempo de vida media del agente quelante en los medios de crecimiento contaminados tiende a cesar más rápido, a causa de la actividad microbiana y la alta temperatura del suelo que causan una más pronta degradación del mismo.

Evangelou *et al.* (2007) presentan algunos datos acerca del EDTA, por ejemplo que fue uno de los primeros ligantes en ser usados como mejoradores en la fitoextracción, e investigaciones realizadas con este ligante han llegado a reportar un incremento en la absorción de metales de hasta 100 veces más que los experimentos testigos. Gracias a los buenos resultados mostrados por el EDTA actualmente se utilizan ligantes con

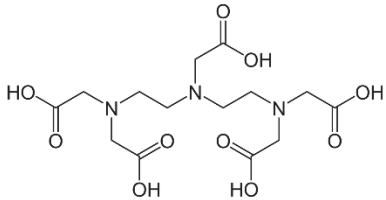
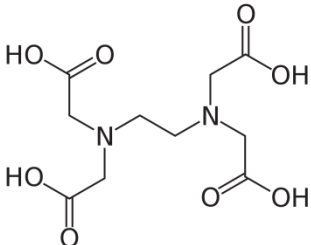
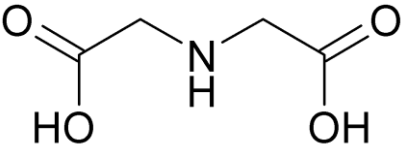
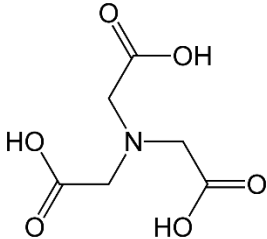
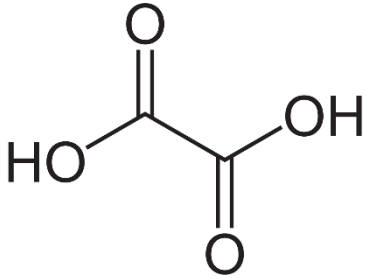
estructuras muy similares a las de esta sustancia, isómeros del mismo, o especies con grupos donares de electrones que tengan comportamiento similar al de esta sustancia.

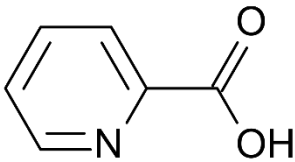
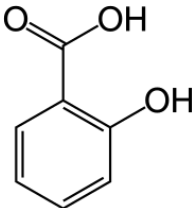
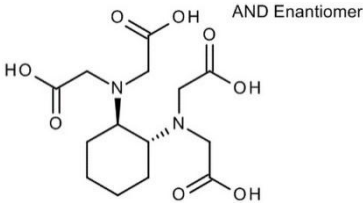
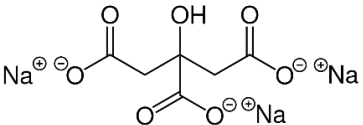
Para que la absorción de metales auxiliada por ligantes sea exitosa esta dependerá en gran medida de las especies de plantas utilizadas, de su condición como acumuladoras, del tipo de metal que se busque remover, de la concentración del ligantes, entre algunos otros factores. A continuación se muestran algunos de los resultados obtenidos en experimentos llevados a cabo por diversos autores:

- Liphadzi *et al.* (2003) mostraron que la aplicación de EDTA (1.0 g kg^{-1}) en la fitoextracción con girasoles (*H. annuus*) mejoró 3 veces más la absorción de Cd, Ni y Pb, metales pesados no esenciales para las plantas.
- Lai *et al.* (2004) lograron cuantificar 520 mg/kg de Zn en los brotes del *pasto vetiver* sembrado en un suelo contaminado, incluyendo la mejora química de la adición de 5 mg/kg de EDTA.

Algo que se busca con el uso de ligantes en la fitoextracción es la formación de especies químicas muy estables, es decir que tengan constantes de formación altas, esto para asegurar la captura del metal y evitar en menor medida la competencia con otras especies presentes en el suelo. Lo anterior no se logra con total seguridad ya que no existen ligantes específicos de cada metal, debido a esto una vez adicionado un ligante a un medio rico en metales hay competencias en las reacciones de formación de especies además de otras interferencias con los cationes presentes en el medio, así estos fenómenos afectan la efectividad de absorción de una especie u otra particularmente.

Tabla 2. Lista de ligantes usados en la experimentación, así como su estructura química.

Nombre del ligante	Acrónimo	Estructura química
Ácido dietilentriaminopentaacético	DTPA	
Ácido etilendiamino tetraacético	EDTA	
Ácido Iminodiacético, sal sódica tetrahidratada	IDA	
Ácido nitrilotriacético	NTA	
Ácido oxálico	Ác Ox.	

Ácido picolínico	Ác Pic.	
Ácido salicílico	Ác. Sal.	
Ácido trans-1,2-diamino ciclohexano-N, N, N', N'-tetraacético monohidratado.	CDTA	
Citrato de sodio.	Cit.	

1.3.7. Técnicas de beneficio en la fitominería

En la industria metalúrgica los minerales son sometidos a diversos tratamientos previos al proceso de obtención de metales en forma elemental, tales procesos son: la molienda, la extracción, la flotación, el afino electrolítico, etc. Hablando específicamente de las técnicas de recuperación del metal puro a nivel industrial Chaussin *et al.* (1975) explicaron que existen dos principalmente, una de ellas es la fundición del metal y la otra es el electrodeposición del mismo, la técnica a elegir dependerá del metal que se quiera recuperar, basándose principalmente en características como: el punto de fusión, el potencial redox, las impurezas que contenga, su maleabilidad, su ductilidad, etc.

Autores como Pan *et al.* (2012), Aparajith *et al.* (2010), Fogarasi *et al.* (2014), entre algunos otros, proponen técnicas de recuperación de metales como el cobre, zinc, plomo y cadmio a nivel laboratorio a partir de pilas y baterías usadas, artículos electrónicos viejos, materiales metálicos en desuso, etc. El beneficio del metal está propuesto por extracción con solventes, electrólisis y destilación al vacío. Dichos procedimientos son realizados con un común denominador, el tener solubles a los metales, lo cual facilita su maniobrabilidad, de las técnicas reportadas en la literatura para recuperar metales a nivel

laboratorio la electrólisis es la más sencilla de llevarse a cabo, más amable con el ambiente y menos costosa al tratarse de cantidades pequeñas.

La fundición como proceso de beneficio a nivel laboratorio no es muy factible, ya que se necesitan materiales especiales para soportar las altas temperaturas, además de que la técnica exige grandes cantidades de energía en forma de calor. Esta técnica es comúnmente usada a nivel industrial en donde se recuperan cantidades considerables de metal.

1.4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto nueve ligantes (EDTA, NTA, CDTA, IDA, DTPA, ácido picolínico, ácido oxálico, ácido salicílico y citrato de sodio) sobre la capacidad fitoextractora de algunos metales pesados por *Festuca arundinacea*.

Objetivos particulares

Evaluar la capacidad fitoextractora de *Festuca arundiancea* para Cu, Cd, Pb y Zn, y valorar si la planta extrae alguno de los metales de forma mayoritaria.

Evaluar la eficacia de adicionar ligantes al medio de crecimiento, sobre la fitodisponibilidad de los metales en el jal minero y su absorción-acumulación en la parte aérea de la planta.

1.5. HIPÓTESIS

La fitoextracción de metales pesados por *Festuca arundinacea* conllevará a determinar si la planta es sensible, tolerante o hiperacumuladora de metales pesados y entonces hará viable cuantificar a algunos de estos en su biomasa aérea.

La adición de ligantes al medio de crecimiento acrecentará la fitodisponibilidad de los metales solubilizándolos, y favorecerá la absorción de los mismos en la parte aérea de la planta en comparación con el tratamiento testigo.

2. METODOLOGÍA

2.1. PROPUESTA GENERAL DE LA EXPERIMENTACIÓN

El experimento planteado es una propuesta de mejora a las metodologías ya existentes de fitoextracción de metales pesados, además se busca la proyección de una propuesta a largo plazo como método rentable de fitoextracción y remediación de suelos contaminados. El punto clave del experimento se basa en el uso de ligantes como mejoradores químicos que abren la opción a la promoción de la hiperacumulación por parte de material vegetal que naturalmente no cuenta con esta característica sobre los metales.

Sustrato

El sustrato de estudio en el experimento fue un jal minero de la mina “La Negra” localidad de Maconí, Municipio de Cadereyta de Montes, Querétaro, México, con el cual se han realizado diversos estudios anteriormente en el laboratorio de trabajo. Cabe recalcar que no se realizó el muestreo de este jal en el presente estudio, pues ya existían las muestras en el laboratorio.

El único procedimiento al que se sometió el jal fue a una homogeneización mecánica completa, buscando con esto la mayor homogeneidad posible. Posteriormente se prepararon 44 macetas con los tratamientos, conteniendo 2.4 kg de material, cada una..

El jal minero se caracterizó para obtener sus valores de pH, conductividad eléctrica, porcentaje de saturación (humedad) y un análisis de los iones presentes en el extracto del mismo, todo esto siguiendo las metodologías descritas por A.L. Page (1982).

Material vegetal

La planta seleccionada para el experimento fue el pasto *Festuca arundinacea* debido a que ya se contaba con antecedentes de uso de esta planta, con resultados prometedores, en proyectos anteriores en el laboratorio, de los cuales se encontró y concluyó que este pasto presenta tolerancia a los metales pesados. Aunado a lo anterior, se eligió este pasto tomando en cuenta también su alta producción de biomasa que se puede llegar a obtener en poco tiempo y su tolerancia a la sequía extrema, entre otras.

Según Zacarías *et al.* (2010) se ha observado que algunas especies de pastos, incluida la presente, han extraído metales pesados en cantidades considerables, como por ejemplo: *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra genuina*, *Lolium perenne*, *Agrostis tenuis* y *Festuca rubra fallax*, han acumulado más de 5000 mg de Cu, 800 mg Ni, 500 mg de Zn, 250 mg de Pb y 15 mg de Cd por kg de biomasa en peso seco.

La semillas de *Festuca* se pusieron a germinar en peat moss, colocado estas en charolas para cóctel, hasta que alcanzó su madurez, después fue trasplantado a las macetas conteniendo jal, permitiéndole su adaptación al nuevo medio de crecimiento durante 1 semana.

Según Ma *et al.* (2016) la concentración de metales absorbidos por las plantas se distribuye usualmente de mayor a menor proporción en las siguientes partes de las plantas:

Raíces fibrosas > raíces principales > tallo > hojas.

La hipótesis anterior es cuestionable debido a que las raíces son la parte de la planta que se encuentra en contacto directo con el medio de crecimiento, es decir con los metales presentes en el suelo. Las raíces de la planta al momento de los tratamientos post cosecha pueden llevar impregnados metales, suelo y microorganismos, los cuales suelen permanecer en las cavidades de las raíces al momento del lavado alterando así los resultados de los análisis. Debido a que no se conocen procedimientos que claramente permitan distinguir la acumulación de los metales en el simplasma (interior de las células radicales) o en apoplasta (espacios intercelulares considerados como exterior de las células), en este experimento no se incluyeron las raíces del pasto en los procesos de cuantificación del metal.

Ligantes

Se eligieron 9 ligantes para probar en el proceso de fitoextracción. Dentro de estos, se eligieron ligantes débiles y fuertes, algunos comunes en el metabolismo de las plantas, y otros de uso en estos procesos de aplicación foliar, u otros de facilitación en la absorción de metales pesados, esto con el fin de encontrar qué ligantes favorecerían la absorción de metales en estudio por la planta.

Las concentraciones de ligantes elegidas para trabajar (1, 2, 3, 4 y 5 mmol/kg) se decidieron con base en los experimentos realizados por Luo *et al.* (2005), Quartacci *et al.* (2007), Tangahu *et al.* (2011) y Komárek *et al.* (2006), quienes realizaron experimentos con objetivos similares a los de este trabajo.

Digestión de la biomasa

La digestión ácida por microondas se llevó a cabo según el método descrito por Cruz (2017) con el objetivo de que los metales estuvieran en solución acuosa, en esta técnica se utilizan como reactivos HNO₃ y H₂O₂.

Cabe mencionar que el proceso de digestión se realizó por duplicado para cada muestra digestada, esto con el fin de disolver en su totalidad la materia vegetal.

Cuantificación por voltimetría

El procedimiento elegido para el análisis de los metales en las muestras digestadas de *Festuca arundinacea* fue la voltimetría, debido a que es la técnica rápida y no destructiva de la muestra analizada, al tiempo que pueden medirse varios de los metales a estudiar en el presente estudio (Pb, Cu, Zn y Cd).

En algunos tratamientos, una vez concluida la digestión, hubo presencia de restos sólidos del pasto, lo que representa una desventaja en el uso de otras técnicas espectroscópicas,

como la Absorción Atómica o ICP, esto debido a que son métodos que involucran el aspirado de la muestra a medir, lo que representa un riesgo para los equipos.

Específicamente se utilizó la modalidad voltamétrica de redisolución anódica (ASV, en inglés *Anodic Stripping Voltametry*) con gota colgante de mercurio (Hanging mercury electrode, HME), esto con el fin de ahorrar mercurio en la medida de lo posible, ya que los métodos de voltametría con goteo (dropping mercury electrode, DME) se llevan a cabo por goteo continuo de mercurio lo cual gastaría mucho para la cantidad de muestras medidas, además de no alcanzar los niveles de detección esperados. En cambio la voltametría de redisolución anódica, sólo usa una micro gota por medición, a la vez.

Las condiciones establecidas en el equipo para las mediciones de los metales se dividieron en dos partes, por una parte el Cd, Cu y Pb se midieron juntos (bajo condiciones de electrólisis diferentes) y el Zn por separado, lo anterior debido a que el zinc se encontró en mucho más bajas concentraciones en las muestras que los otros metales y debido a eso la interacción con los otros metales hacía poco nítida la presencia de su pico en los voltamoogramas.

2.2. LUGAR DE LA EXPERIMENTACIÓN

Las determinaciones experimentales se llevaron a cabo en el laboratorio L-15 (Laboratorio de Análisis e Investigación en Química Agrícola y Ambiental, LAIQAA) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria, así como en el invernadero del área, localizado en el jardín botánico, donde se sembró, regó y cosechó el pasto, ambas instalaciones dentro de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4.

2.3. MATERIALES

- Bolsas de plástico negras para maceta con capacidad de 4 kg.
- Jal minero de la mina “La Negra” (20°50'2.12"N, 99°31'3.84"O) localidad de Maconí, Municipio de Cadereyta de Montes, Querétaro, México.
- Frascos de polietileno con tapa de 100 mL.
- Cristalería de laboratorio.
- Peat moss, turba de Sphagnum (PREMIER)
- Suelo prístino proveniente de la localidad de Maconí, Municipio de Cadereyta de Montes, Querétaro, México.
- Semillas de pasto *Festuca arundinacea*.
- Platos de unicel planos (25 cm de diámetro).
- Charolas de plástico para cóctel (10 cm x 10 cm).

- Fertilizante “Triple 17”.

2.4. SOLUCIONES Y REACTIVOS

- Agua desionizada
- H₂O₂ (30%)⁵
- HNO₃ destilado (13 M)¹
- Cd(NO₃)₂·4H₂O grado reactivo (99%)¹
- CuSO₄·2H₂O grado reactivo²
- ZnSO₄·7H₂O grado reactivo (100 %)¹
- Pb(NO₃)₂ grado reactivo (100%)¹

Tabla 2. Cantidades pesadas de cada ligante para preparar las soluciones Stock. (Ver ANEXO II).

Ligante	Fórmula/Acrónimo	Cantidad pesada (g)	Concentración (M)
t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético monohidratado (98%) ³	CDTA·H ₂ O	3.3941	0.1
Ácido dietilentriaminopentaacético (98%) ³	DTPA	3.8548	0.1
Ácido Iminodiacético, sal sódica tetrahidratada (98%) ³	IDA·4H ₂ O	2.4414	0.1
Ácido picolínico (99%) ⁴	Ác. Pic.	1.2187	0.1
Ácido etilendiaminotetracético dihidratado (100.04%) ¹	EDTA·2H ₂ O	56.0593	0.15
Ácido oxálico dihidratado ⁵	Ác. Ox·2H ₂ O	12.6070	0.1
Citrato de sodio (100.03%) ¹	Cit.	7.4780	0.1
Ácido salicílico (99.7%) ¹	Ác. Sal.	13.7705	0.1
Ácido nitrilotriacético (99%) ⁴	NTA	1.8922	0.1

¹ Baker Analyzed, ² Mallinckrodt, ³ Aldrich Chemical Company, Inc., ⁴ Sigma Aldrich, ⁵ Productos Químicos Monterrey S.A.

2.5. EQUIPOS E INSTRUMENTOS

- Electrochemical Trace Analyzer: Marca PRINCETON APPLIED RESEARCH, con electrodo Model 303A SMDE
- Medidor de pH, conductividad eléctrica (CE) Oakton 510, multiescala
- Balanza analítica digital Precisa XT 220A
- Balanza Electrónica de precisión Rhino
- Digestor de Microondas MARSXpress, CEM Corporation, NC, E.U.A

2.6. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

En esta sección se describen los procedimientos que se llevaron a cabo en el laboratorio y en el invernadero durante el experimento, con el fin de caracterizar el jal y el suelo, y preparar los tratamientos de estudio, así como tratar y analizar el pasto cosechado en cada poda.

2.6.1. Caracterización del jal minero

El porcentaje de saturación del jal se determinó de acuerdo con los métodos descritos por Page (1982), se pesaron aproximadamente 300 g de jal y se realizaron 3 pruebas cualitativas requisito.

Para el análisis de iones se extrajo el extracto del jal húmedo (del paso anterior) por medio de succión/filtración al vacío, una vez obtenido fue etiquetado, y guardado en refrigeración hasta el tiempo de análisis. .

Al extracto se le midió su valor de pH así como también su valor de conductividad eléctrica.

2.6.2. Preparación del jal minero

El jal proveniente de la mina La Negra, en Querétaro ya había sido utilizado en otros experimentos referentes a la remediación de suelos en el laboratorio (Cruz 2017). El único tratamiento que se le dio al jal fue una homogeneización en forma física a través de un mezclado mecánico completo, el cual se realizó sobre una lona y con una pala se homogeneizó para evitar la heterogeneidad en el mismo.

2.6.3. Preparación de los tratamientos de estudio (jal minero y suelo)

Los tratamientos se prepararon en bolsas negras para maceta con capacidad de 4 kg, conteniendo 2.4 kg de suelo cada una.

Se planteó el experimento con los nueve ligantes, un testigo (jal puro) y un blanco (suelo prístino). Con base en los experimentos realizados por Luo *et al.* (2005), Komárek *et al.* (2006), Quartacci *et al.* (2007), y Tangahu *et al.* (2011). En la siguiente tabla se resume el esquema para la realización del experimento.

Tabla 3. Características de la preparación de los tratamientos, sus concentraciones y número de réplicas en el experimento.

Tratamiento	Réplicas	Medio de crecimiento	Concentración de ligantes (mmol/Kg)
Blanco	3	Suelo prístino	-
Testigo	3	Jal	-
EDTA	3	Jal	1, 2, 3, 4 y 5
Ácido oxálico, ácido salicílico y citrato de sodio	2	Jal	1, 2, 3, 4 y 5
CDTA, DTPA, IDA, NTA y ácido picolínico	1	Jal	1

Hubo tratamientos que se trabajaron con cinco concentraciones, esto debido a que los ligantes que se usaron son baratos y de fácil adquisición, con el fin de proyectar el experimento de la forma más viable posible como método de remediación del suelo y fitoextracción de metales. Por otra parte los tratamientos trabajados con una sola concentración tienen la función de abrir o descartar nuevas líneas de investigación en el área, ya que estos ligantes son más costosos y de difícil acceso.



Figura 1. Establecimiento de algunos tratamientos del experimento.

2.6.4. Germinación de las semillas de pasto

Las semillas de *Festuca arundinacea* se pusieron a germinar durante 1 mes en peat moss en las charolas de plástico, fueron regadas diariamente hasta la etapa de crecimiento vegetativo del pasto. Se trabajó con dos distintas generaciones de pasto, llevándose entre ellos 2 semanas de crecimiento debido a la falta de suficiente material vegetal de la primera generación de pasto sembrado.



Figura 2. Pasto de *Festuca arundinacea* recién germinado en peat moss.

2.6.5. Siembra y acondicionamiento de *Festuca arundinacea*

Una vez concluido el mes de germinación de la segunda generación de pasto ambas generaciones (primera con 1 mes y 2 semanas de crecimiento y segunda con 1 mes de crecimiento) fueron trasplantados al azar, del peat moss, a las bolsas que contenían los 2.4 kg de jal, siete racimos con aproximadamente diez estolones de pasto cada uno se distribuyeron aleatoriamente en todos los tratamientos, cuidando que pastos de la primera y segunda generación quedarán mezclados en todas las macetas en forma aleatoria.

Posteriormente se regaron con agua suficiente y así permanecieron por 3 semanas; durante las tres semanas se estuvo monitoreando su adaptación al nuevo medio de crecimiento, y se notó que el cambio de medio de crecimiento sí estresó al pasto, reflejándose ese estrés en un bajo desarrollo de biomasa por parte de la planta, el riego se realizó cada tercer día manteniendo la humedad al 80% de capacidad, según lo descrito por Lai *et al.* (2004) y Komárek *et al.* (2006).

2.6.6. Fertilización del jal

A lo largo de las tres semanas de adaptación del pasto, se observó que éste se vio afectado (crecimiento y desarrollo) por el medio de crecimiento tóxico y con el fin de brindarle los macronutrientes necesarios para un óptimo desarrollo se fertilizó el jal con fertilizante “Triple 17”. Se disolvió 1.000 g de fertilizante en 2 L de agua y posteriormente se adicionaron 20 mL de solución nutritiva a cada tratamiento previamente podado. Esta fue la primera y única fertilización durante el experimento, desde este procedimiento se comenzó a contar el tiempo cero (t_0) del experimento.



Figura 3. Comparación entre pasto crecido en jal (izquierda) y pasto crecido en suelo prístino (derecha).

2.6.7. Riego y poda

El riego con ligantes se realizó con las soluciones preparadas de acuerdo con lo descrito en el apartado “Soluciones y reactivos”. Antes de iniciar la experimentación con ligantes se colocó bajo cada tratamiento una charola de plástico para no perder nutrientes debido al riego suministrado a los tratamientos. El líquido que escurrió por la maceta se reincorporó a la misma.

La cantidad de ligante adicionado a cada tratamiento, el intervalo de tiempo entre adiciones y el tiempo entre podas se decidió con base en los experimentos reportados por Lai *et al.* (2004), Wang *et al.* (2017), Gueju *et al.* (2013) y Quartacci *et al.* (2007).

Una vez transcurrido el tiempo de adaptación del pasto en el jal se comenzó a contar como tiempo cero, (t_0). A partir de esa fecha y durante 2 meses el experimento se siguió de la siguiente forma:

Tabla 4. Indicaciones para el riego y poda de los tratamientos. En tabla se presentan las concentraciones adicionadas y los tiempos iniciales de la poda.

Tratamientos				
	Ligantes		Testigo	Blanco
	1 mmol	1-5 mmoles		
Riego y adición de ligantes	Los ligantes se adicionaron en cuatro porciones, iniciando 15 días después del t_0 . Se regó con agua desionizada cada tercer día.	Los ligantes se adicionaron en cuatro porciones, iniciando 15 días después del t_0 . Se regó con agua desionizada cada tercer día.	Se regó con agua desionizada cada tercer día.	Se regó con agua desionizada cada tercer día.
Podas	Una poda inicial se realizó al empezar a contar t_0 . A partir del t_0 , cada 15 días se podó y se agregaron los ligantes un día después a los tratamientos, este procedimiento se realizó 4 veces así como una última poda única.		Una poda inicial se realizó al empezar a contar t_0 . A partir del t_0 , cada 15 días se podaron los tratamientos, este procedimiento se realizó 4 veces así como una última poda única.	Una poda inicial se realizó al empezar a contar tiempo cero t_0 . A partir del t_0 , cada 15 días se podaron los tratamientos, este procedimiento se realizó 4 veces así como una última poda única.

Tabla 5. Calendarización de las actividades (año 2019). En la tabla se indican los días de la adición de ligantes y las podas en el experimento, señalándose las podas (P), la adición de ligantes (L), el tiempo cero (t_0), y el riego común (R).

Martes 21-05	Miércoles 22-05	Jueves 23-05	Viernes 24-05	Sábado 25-05	Domingo 26-05	Lunes 27- 05
t_0 , R		R		R		R
Martes 28-05	Miércoles 29-05	Jueves 30-05	Viernes 31-05	Sábado 01-06	Domingo 02-06	Lunes 03- 06
	R		R		R	
Martes 04-06	Miércoles 05-06	Jueves 06-06	Viernes 07-06	Sábado 08-06	Domingo 09-06	Lunes 10- 06
R	P0	R, L1		R		R
Martes 11-06	Miércoles 12-06	Jueves 13-06	Viernes 14-06	Sábado 15-06	Domingo 16-06	Lunes 17- 06
	R		R		R	
Martes 18-06	Miércoles 19-06	Jueves 20-06	Viernes 21-06	Sábado 22-06	Domingo 23-06	Lunes 24- 06
R		R, P1	L2	R		R
Martes 25-06	Miércoles 26-06	Jueves 27-06	Viernes 28-06	Sábado 29-06	Domingo 30-06	Lunes 01- 07
	R		R		R	
Martes 02-07	Miércoles 03-07	Jueves 04-07	Viernes 05-07	Sábado 06-07	Domingo 07-07	Lunes 08- 07
R		R	P2	R, L3		R
Martes 09-07	Miércoles 10-07	Jueves 11-07	Viernes 12-07	Sábado 13-07	Domingo 14-07	Lunes 15- 07
	R		R		R	
Martes 16-07	Miércoles 17-07	Jueves 18-07	Viernes 19-07	Sábado 20-07	Domingo 21-07	Lunes 22- 07
R		R		R, P3	L4	R
Martes 23-07	Miércoles 24-07	Jueves 25-07	Viernes 26-07	Sábado 27-07	Domingo 28-07	Lunes 29- 07
	R		R		R	
Martes 30-07	Miércoles 31-07	Jueves 01-08	Viernes 02-08	Sábado 03-08	Domingo 04-08	Lunes 05- 08
R		R		R	P4	R

Los brotes de biomasa de cada tratamiento (ligantes, testigo y blanco) una vez obtenidos se secaron al aire y conservaron en sobres de papel separados y debidamente etiquetados para su posterior tratamiento.

2.6.8. Tratamiento de la biomasa

La biomasa obtenida se llevó a sequedad a 65 °C en la estufa por 24 horas, luego se pulverizó en el mortero y se dejó lista para el análisis. Se sometió una pequeña parte de la biomasa a 105 °C por 18 horas para el análisis de peso seco de la muestra (Page, 1982).

Una vez totalmente secas las muestras se resguardaron para el posterior proceso de digestión.

2.6.9. Digestión ácida total de la biomasa

Una vez seca la biomasa se pesaron aproximadamente 0.0500 g de cada uno de los tratamientos (en los casos donde se obtuvo menor biomasa que 0.0500 g se colocó toda la biomasa disponible).

La digestión ácida por microondas se llevó a cabo según el método descrito por Cruz (2017), esto con el objetivo de que los metales estuvieran en solución para su posterior análisis. El procedimiento para cada tratamiento de pasto fue el siguiente:

- Se agregaron 6 mL de HNO₃ 4 M iso-destilado, 2 mL de H₂O₂ (30%) y los 0.0500 g de biomasa previamente pesada en los tubos de teflón del sistema de microondas, los cuales se cerraron a presión antes de comenzar el programa de microondas. El programa de digestión por microondas que se siguió fue el siguiente: 3 min. a 95 °C, 10 min. a 160 °C, 3 min. a 185 °C y 15 min. a 185 °C, se realizó por duplicado el proceso antes descrito para cada muestra.
- Una vez terminado el programa de digestión, los tubos del microondas se abrieron en la campana, ahí mismo se aforaron las soluciones digestadas en matraces de 25 mL resguardándolas con su respectiva etiqueta, hasta el tiempo de análisis..



Figura 4. Muestras etiquetadas y resguardadas una vez concluido el proceso de digestión ácida de la biomasa.

2.6.10. Cuantificación de los metales fitoextraídos

- Preparación de las curvas de calibración (Ver ANEXO I)

Las curvas de calibración constaron de 5 puntos cada una, las concentraciones en “ppm” fueron distintas para cada metal, las concentraciones de cada metal se basaron en las

cantidades promedio que arrojaron 3 mediciones al azar de entre las muestras. Las curvas de calibración quedaron preparadas como se muestra a continuación:

Tabla 6. Concentraciones de las curvas de calibración de cobre, plomo, cadmio y zinc.

<i>Metal</i>	<i>Cobre</i>	<i>Plomo</i>	<i>Cadmio</i>	<i>Zinc</i>
Concentración (ppm)	0	0	0	0
	0.5	0.25	0.1	0.2
	1.0	0.5	0.2	0.3
	2.0	0.75	0.3	0.4
	3.0	1.0	0.4	0.5

- Voltametría

Específicamente se trabajó con voltametría de redisolución, esto con el fin de incrementar la sensibilidad de la determinación, tener una buena selectividad, reproducibilidad y robustez, además de ahorrar mercurio en la medida de lo posible, ya que la mayoría de los métodos de polarografía se llevan a cabo por goteo continuo, lo cual gasta mucho mercurio y no es conveniente cuando se trabajan muchas muestras, en cambio la voltametría de redisolución sólo usa una gota por determinación.

Las condiciones establecidas en el equipo para las mediciones de los metales se dividieron en dos partes, por un lado el Cd, el Cu y el Pb se determinaron juntos, por otro lado se determinó el Zn, lo anterior debido a que el zinc se encontró en mucho más bajas concentraciones en las muestras que los otros metales, debido a la interacción con los otros metales se hacía poco nítida la aparición del pico de zinc en los voltamogramas. Las condiciones establecidas para las determinaciones fueron las siguientes:

- Técnica: Voltametría de pulso diferencial
- Equilibración: 10 s
- Potencial inicial: -1.5 V / **-1.3 V***
- Potencial final: 0.1 V / **0.8 V***
- Tasa de escaneo: 33.33 mV/s
- Incremento de escaneo: 10 mV
- Paso/Tiempo de caída: 0.3 s
- Área del electrodo: 1 cm²
- Tipo de curva: Sample
- Altura de pulso: 20 mV
- Tiempo de purga: 0 s (no hubo purga de la solución)
- Potencial de acondicionamiento: -1.5 V / **-1.3 V***
- Tiempo de acondicionamiento: 10 s
- Tiempo de deposición: 60 s / **150 s***
- Electrodo de referencia: AgCl
- Valor de referencia: 0.222
- Electrodo de trabajo: HMDE

- Tamaño de gota: Pequeña

NOTA: Las variaciones que aparecen en negritas y con asterisco corresponden a las modificaciones realizadas para la medición del zinc, todas las demás condiciones fueron las mismas.



Figura 5. Equipo usado para la determinación de los metales pesados. (Electrochemical trace analyzer, Model 303A SMDE, PRINCETON APPLIED RESEARCH).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL JAL

Se caracterizó el suelo prístino y el jal según los parámetros recomendados por Aguirre (2001) y la norma SEMARNAT-2002.

En la tabla 7 puede observarse que tanto el jal como el suelo prístino caen dentro de la clasificación de ligeramente alcalinos, debido a sus valores de pH. Por su conductividad eléctrica el jal se clasificó como muy ligeramente salino, por lo que contiene poca cantidad de sales solubles en él, en lo que respecta al suelo prístino este resultó un suelo con efectos despreciables de la salinidad, esto quiere decir que hay muy poca o una nula cantidad de sales solubles presentes.

Con base en el color café del jal se asume que este ha generado acidez debido a la oxidación de sulfuros metálicos como la pirita (oxidación de hierro +3, color rojo), por otro lado su valor de pH y su color gris pueden ser señal de que es un jal que no está oxidado por completo y/o que contiene minerales con capacidad de neutralización (calcita CaCO_3 , wollastonita CaSiO_3 , magnesita MgCO_3 o dolomita), según lo expuesto por Gutiérrez *et al.* (2007), Aguirre (2001) y Martín y Gutiérrez (2010).

Lo anterior apoya la hipótesis de que en el jal no predominaban las reacciones de oxidación que solubilizan las sales y generan acidez, además la presencia de minerales básicos neutralizarían la acidez que pudiese generarse tras la oxidación de sulfuros remanentes, evitando la lixiviación de los metales. De acuerdo al pH del jal, éste debe contener en su mayoría especies insolubles, tales como: óxidos, hidróxidos, silicatos, carbonatos, sulfuros, etc.)

Tabla 7. “Tabla de clasificación de los suelo sobre la base de su valor de pH”. Tomada del libro “Química de los suelos ácidos, templados y tropicales”, Aguirre (2001) Ed. FES-Cuautitlán-UNAM, México..

Clasificación	pH
Extremadamente ácidos	<4.5
Fuertemente ácidos	4.6-5.5
Moderadamente ácidos	5.6-6.0
Ligeramente ácidos	6.1-6.5
Neutros	6.6-7.3
Ligeramente alcalinos	7.4-7.9
Moderadamente alcalinos	8.0-8.5
Fuertemente alcalinos	8.6-9.4
Extremadamente alcalinos	>9.5

Tabla 8. “Clasificación de los suelos de acuerdo a su conductividad eléctrica”. Tomada de la norma SEMARNAT-2002.

Interpretación de conductividad eléctrica	
CE dS m ⁻¹ a 25°C	Efectos
<1	Efectos despreciables de la salinidad
1.1 – 2.0	Muy ligeramente salino
2.1 – 4.0	Moderadamente salino
4.1 – 8.0	Suelo salino
8.1- 16.0	Fuertemente salino
>16.0	Muy fuertemente salino

Tabla 9. Características y propiedades fisicoquímicas de los suelos estudiados.

Característica	Jal	Suelo prístino
Color	Café grisáceo 10YR 5/2	Rojo oscuro 2.5YR 3/6
pH	7.94	7.82
Conductividad eléctrica (CE)	1.965 dS/m	0.0943 dS/m

NOTA: El color se determinó de acuerdo con los parámetros establecidos por el manual *Munsell (1994)*.

3.2. BIOMASA PRODUCIDA POR *Festuca arundinacea*

En esta sección se expone el resultado del análisis de la producción de biomasa por *Festuca arundinacea* bajo los distintos tratamientos de ligantes (EDTA, CDTA, DTPA, IDA, NTA, ácido oxálico, ácido salicílico, ácido picolínico y citrato de sodio), blanco (suelo prístino) y testigo (jal puro). El análisis constó de dos secciones, la primera sección analiza a cada uno de los tratamientos por poda y la segunda sección analiza a los tratamientos por concentración adicionada de ligante.

Todas las subsecciones que se analizan a continuación se hacen de la siguiente manera; se da primeramente una descripción de los resultados mostrados en los gráficos y las figuras, al final de cada subsección se discuten éstos a profundidad.

3.2.1. Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de ligantes en el tiempo sobre la producción de biomasa

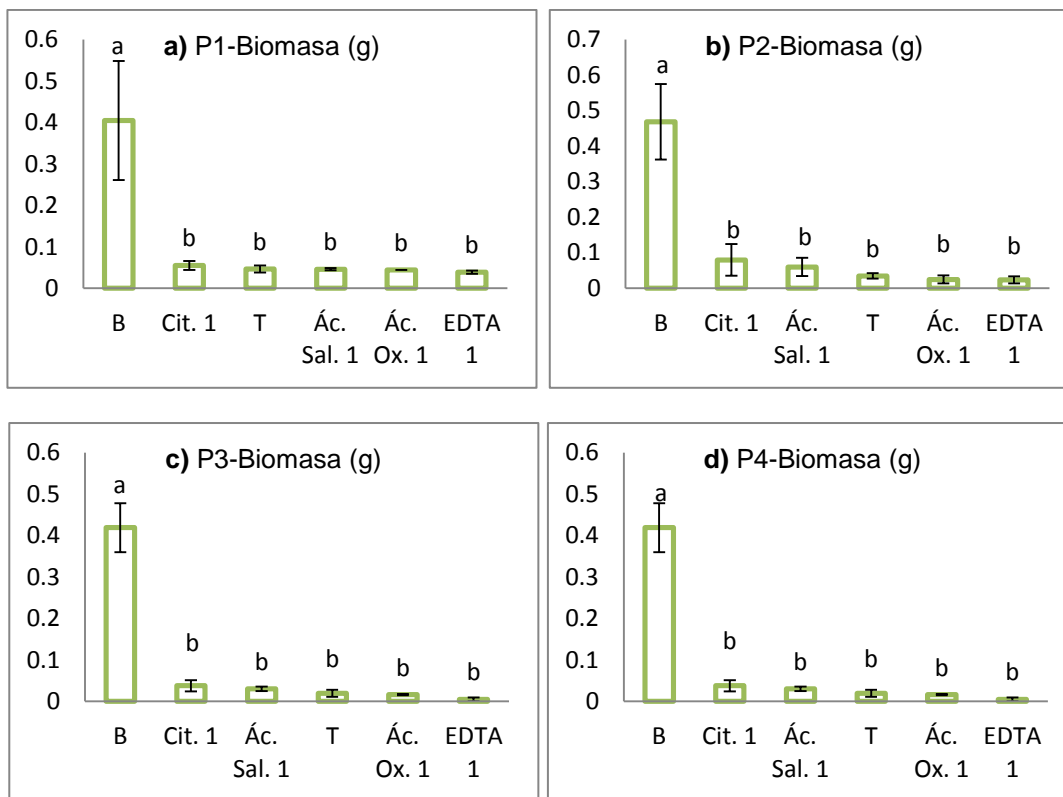


Figura 7. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 1 milimol de ligantes/kg de suelo. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico y Ácido etilendiamotetracético.

En la figura 7 se observa que con la adición de un milimol de ligantes/kg suelo, para las diferentes podas P1, P2, P3 y P4, sólo el tratamiento blanco fue significativamente superior a los demás tratamientos en la producción de biomasa. Las diferentes letras insertadas al tope de los histogramas y las barras de error dan cuenta de ello. (Ver análisis de varianza en el ANEXO IV)

En esta sección y en la siguiente, se encontrarán casos donde a pesar de que algunos tratamientos con ligantes a simple vista parecen ser diferentes a otros aunque todos ellos posean la misma letra, estadísticamente no lo son, un ejemplo de esto puede observarse en la figura 7, gráfico b), donde el tratamiento con citrato de sodio pareciera ser diferente al de EDTA en el promedio de biomasa producida, además para ambos tratamientos las barras de error no se traslapan entre sí, por lo que debería existir una diferencia mínima significativa entre ellos (ver procedimientos en el ANEXO IV).

La situación explicada anteriormente se debe principalmente a que se incluyó en el análisis estadístico a los tratamientos blanco, los cuales arrojaron resultados muy por encima de la media en comparación con los demás tratamientos, provocando un error

bastante amplio entre los tratamientos; ocasionando que las barras de error de los tratamientos se traslaparan unas con otras entre tratamientos.

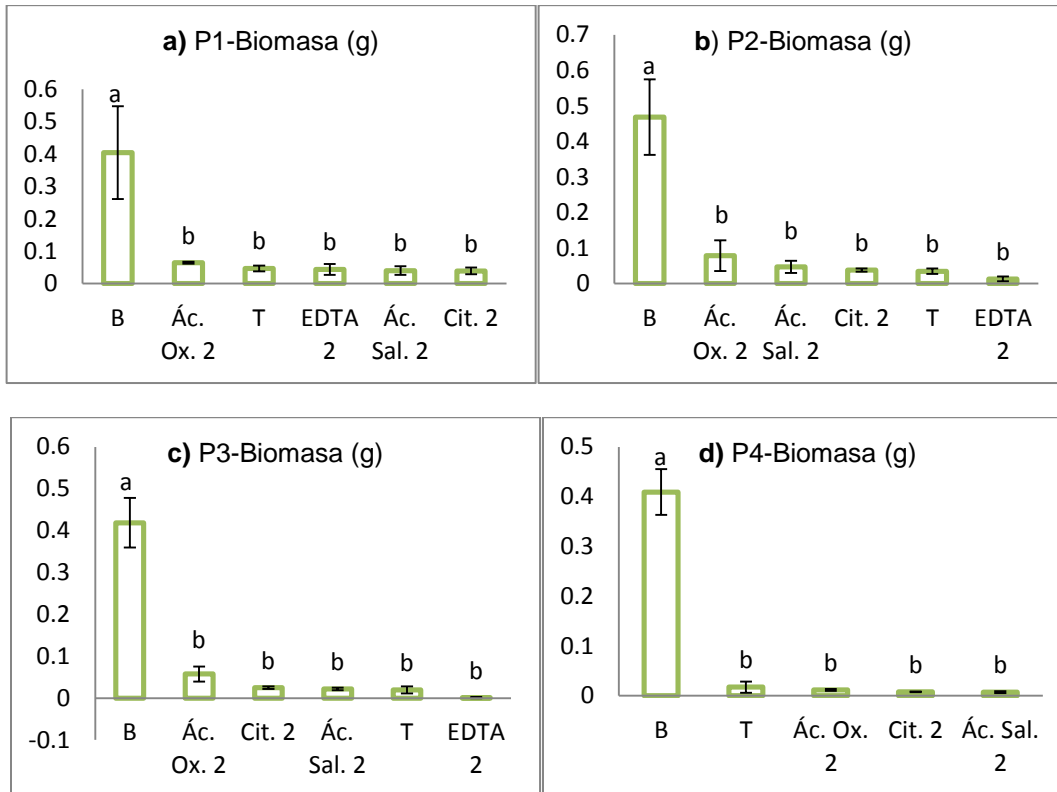


Figura 8. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 2 milimol de ligantes/kg de suelo. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico y Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de dos milimoles de ligantes/kg de suelo, el blanco volvió a ser el único tratamiento significativamente superior. A pesar de que algunos tratamientos con ligantes son a primera vista diferentes a otros, estadísticamente no lo son, esto provocado principalmente por la variación en las barras de error de cada tratamiento, y en menor medida debido a la variación natural del experimento y por el efecto genético individual de las plantas bajo estudio.

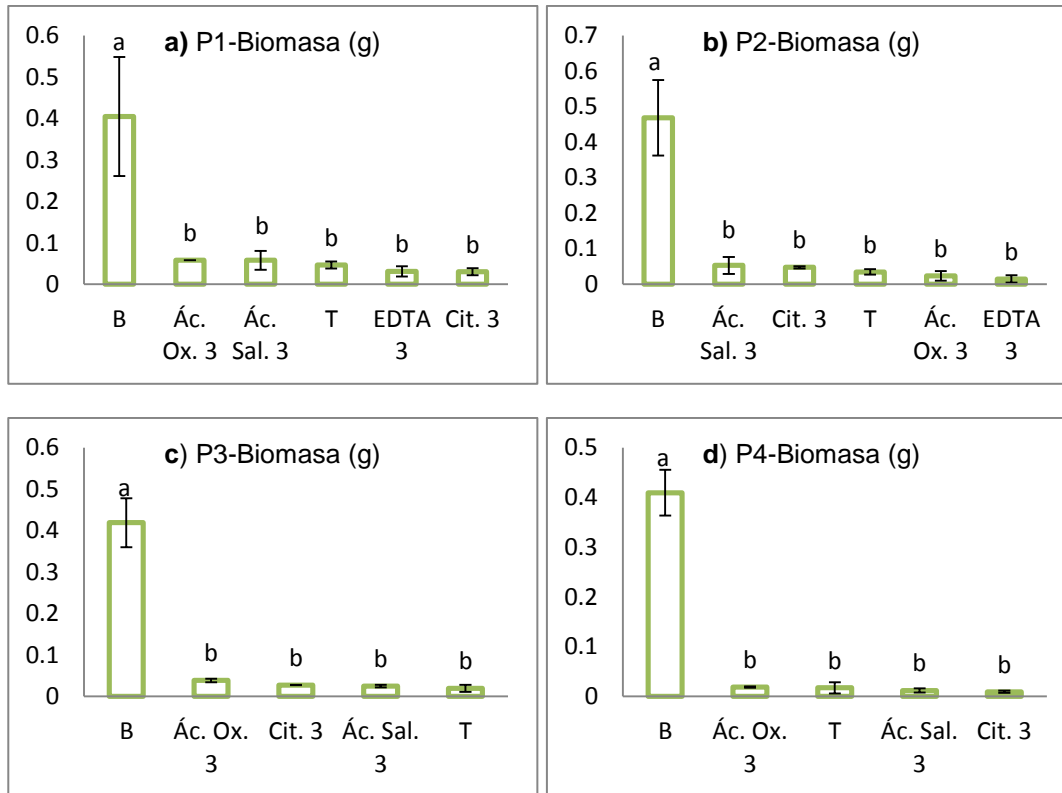
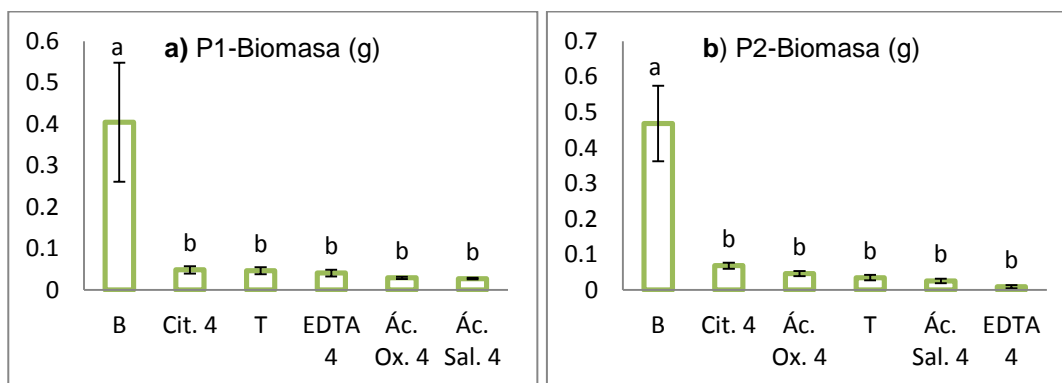


Figura 9. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 3 milimol de ligantes/kg de suelo. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico y Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de tres milimoles de ligantes/kg de suelo, el tratamiento blanco continuó siendo el único tratamiento significativamente distinto a los demás, entre los tratamientos con ligantes y el testigo no hubo diferencias mínimas significativas.



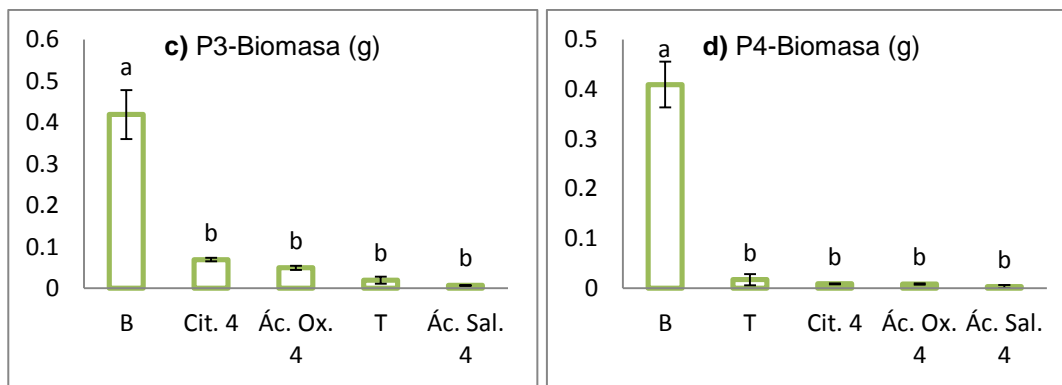


Figura 10. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 4 milimol de ligantes/kg de suelo. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico y Ácido etilendiamotetraacético.

Como se observa en la figura 10 la tendencia mencionada anteriormente continúa, el tratamiento blanco produjo mucha mayor biomasa que los demás tratamientos, siendo el único tratamiento significativamente diferente, tanto con cuatro, como con cinco milimoles de ligantes/kg de suelo, como también se muestra abajo en la figura 11.

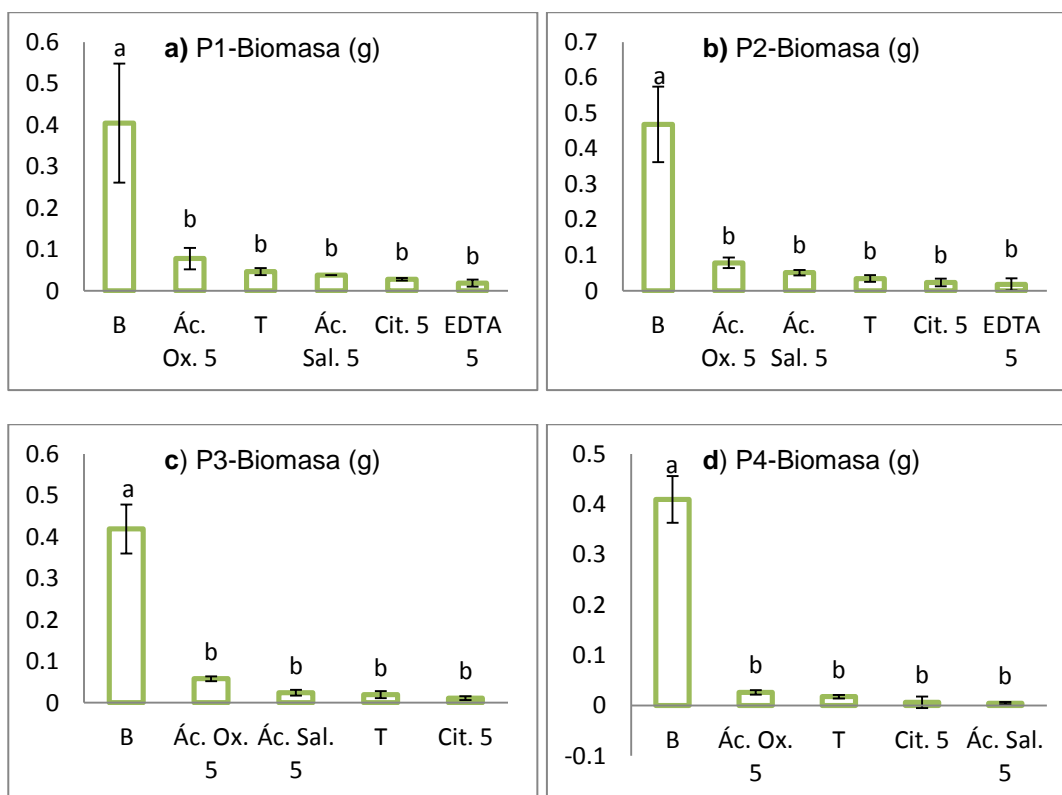


Figura 11. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 5 milimol de ligantes/kg de suelo. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico y Ácido etilendiamotetraacético.

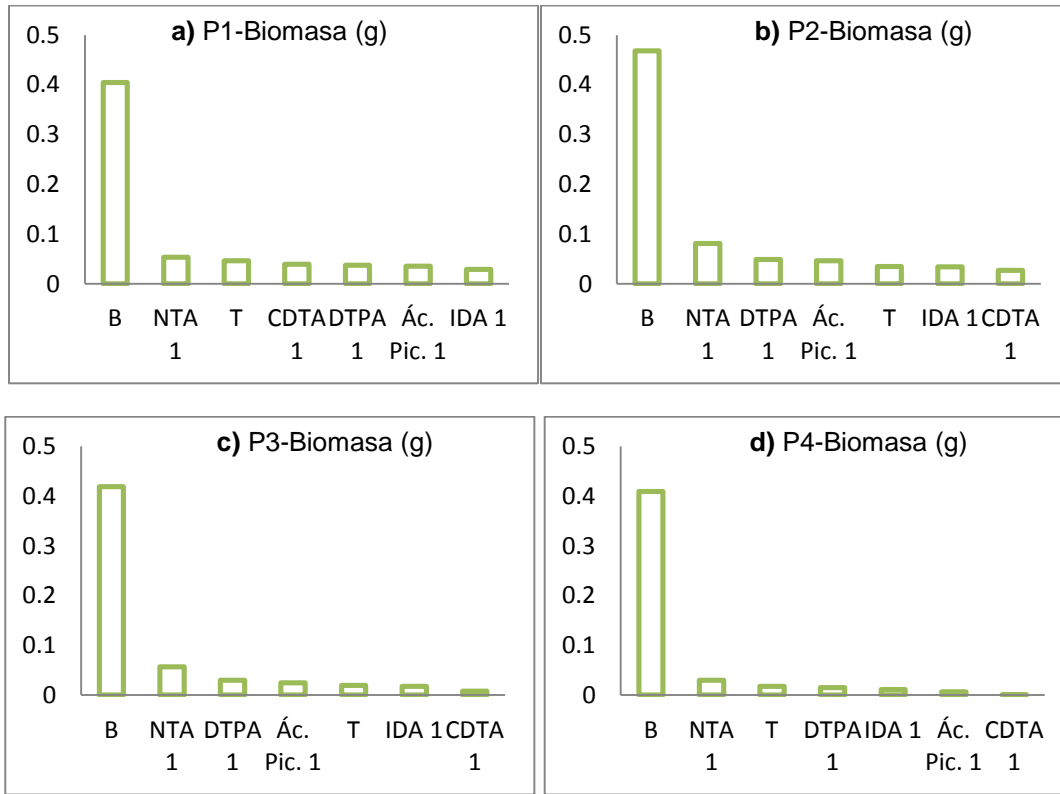


Figura 12. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por la adición de 1 milimol de ligantes/kg de suelo. Los tratamientos sólo tuvieron una réplica, por lo que no se realizaron cálculos estadísticos y únicamente se observan los histogramas de cada tratamiento. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

En la figura 12 sólo se observan los histogramas correspondientes a los tratamientos de ligantes de una réplica (sin barras de error), pues al tratarse únicamente de un dato no se realizó estadística alguna. Sin embargo, puede observarse una tendencia similar a los anteriores casos, donde el tratamiento blanco fue siempre superior en la producción de biomasa en todas las podas. Por otro lado, el tratamiento con NTA fue, de todos los ligantes el único que en las cuatro podas ocupó el segundo puesto en cuanto a biomasa producida, aunque en realidad ninguno de los ligantes causó diferencias aparentes entre ellos.

DISCUSIÓN

Ninguno de los tratamientos con ligantes aplicados al jal fue significativamente diferente al testigo, la producción de biomasa por parte de *Festuca arundinacea* en estos tratamientos no cambió bajo el efecto de ninguna concentración de ligante probada, esto puede atribuirse directamente al medio de crecimiento donde se desarrollaron; al haber sido un medio ligeramente alcalino muy probablemente contenía cantidades elevadas de Ca y Mg, y cantidades poco disponibles de micronutrientes como el Fe, Mn, Cu y Zn, según lo descrito por Aguirre (2001). Clabeaux *et al.* (2013) mencionan que incluso metales nutrimento como el zinc, en exceso pueden llegar a ser tóxicos para el desarrollo de las plantas.

Tanto los ligantes probados en los tratamientos con sólo una réplica como los estudiados por triplicado, mostraron un muy bajo índice de crecimiento en su biomasa producida, lo cual se relaciona con el medio de crecimiento como ya se mencionó, pero también con la posible fitotoxicidad que los ligantes pueden proveer a la planta; así ligantes con mayores valores de constantes de formación de complejos metálicos (EDTA, CDTA, DTPA etc.), intoxicaron en mayor medida a la planta, complejando e incrementando la acumulación de metales absorbidos. La causa por la que algunos de los ligantes antes mencionados intoxican a la planta en mayor medida, es debido a que complejan mayor cantidad de iones metálicos, y forman complejos solubles que son introducidos a la planta cuando ésta absorbe agua a través de las raíces.

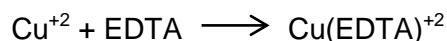
Los metales pesados muy probablemente se encontraban en el jal en forma de minerales como la calcopirita (FeCuS_2), pirita (FeS_2), esfalerita (ZnS) y galena (PbS), debido al medio ligeramente alcalino del jal, los iones de metales pesados también pudieron estar retenidos por fenómenos de sorción en las superficies de oxihidróxidos de hierro, que son el principal producto de la oxidación-neutralización en jales mineros (como ejemplo la akaganeíta, goethita, ferhidrita, entre otros.), Martín y Gutiérrez (2010).

Enseguida se muestran ejemplos generales de las reacciones químicas hipotéticas que se presentaron en el jal.

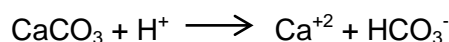
Ejemplo de la reacción de oxidación de la calcopirita:



Ejemplo de la complejación del ión cobre (II) con EDTA:



Ejemplo de la reacción de neutralización de la calcita:



Por otro lado, los ligantes de menores valores de constantes de formación de complejos metálicos (citrato de sodio, ácido oxálico, etc.) mostraron un mejor desempeño en la

producción de biomasa, lo anterior debido a que complejaron y acumularon menor cantidad de metales liberados en los procesos redox, estos tratamientos permanecieron muy similares en su crecimiento de biomasa al tratamiento testigo, y apenas notoriamente superior a los tratamientos con EDTA y CDTA. A los factores anteriores también se les puede añadir una mayor biodegradabilidad de los ligantes menos complejantes.

3.2.2. Comparación de los tratamientos por concentración. Efecto de cada ligante en el tiempo sobre la producción de biomasa

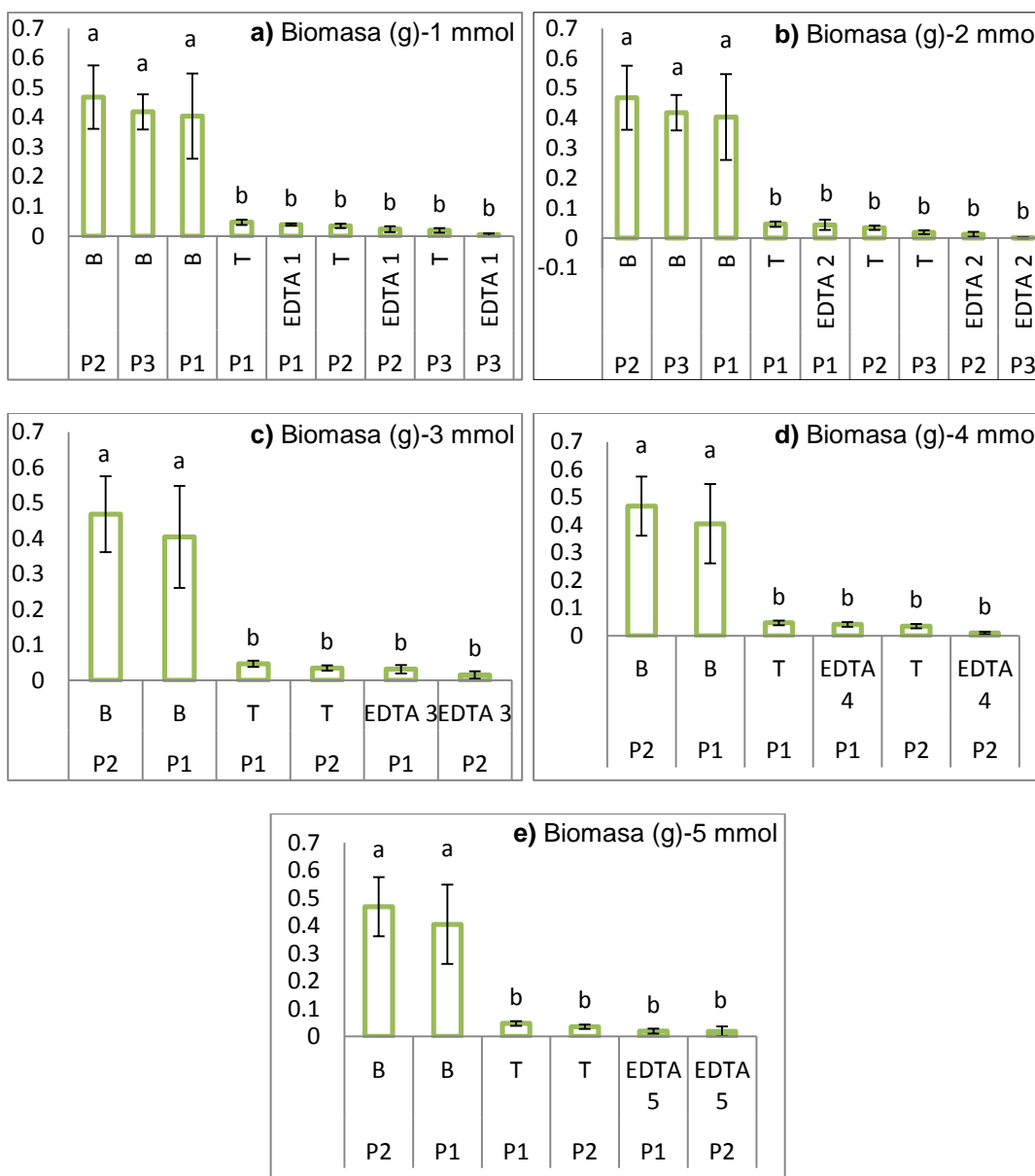


Figura 13. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por cada una de las concentraciones de EDTA en la producción de biomasa. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo y Ácido etilendiamotetraacético.

En la figura 13 puede observarse que los tratamientos blancos para todas las concentraciones y durante todas las podas, fueron los únicos tratamientos significativamente diferentes en comparación con los otros. La cantidad de biomasa producida por los tratamientos con EDTA en todas las concentraciones fue menor al testigo, mas no fueron entre ellos significativamente diferentes.

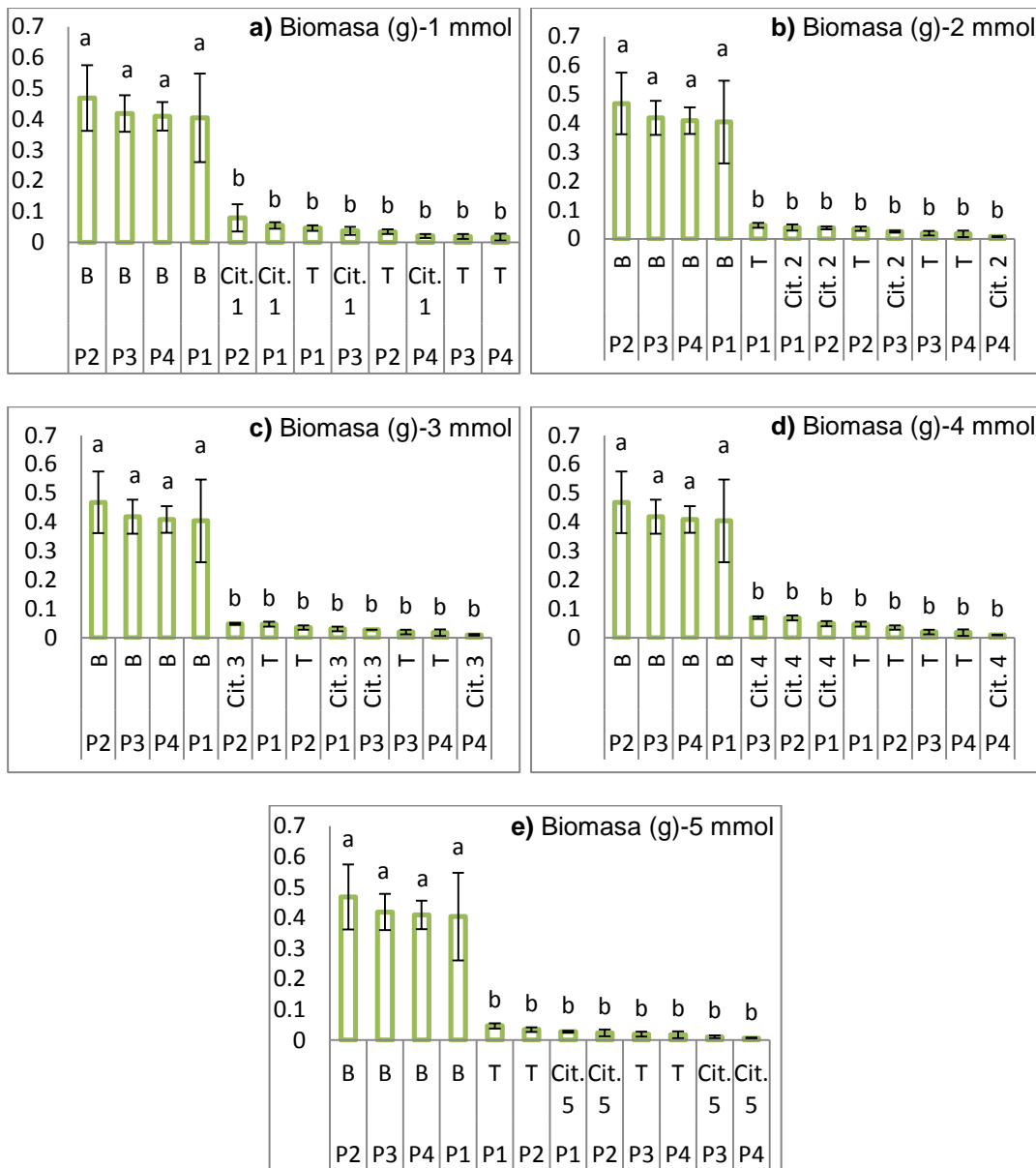
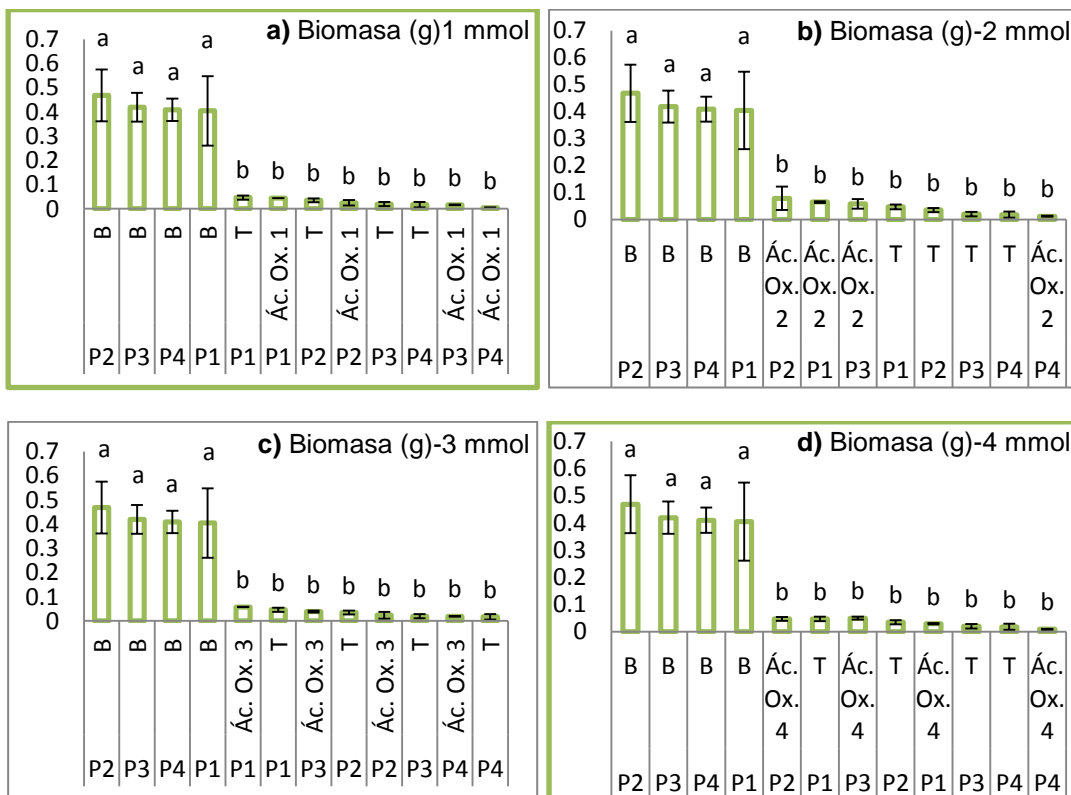


Figura 14. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por cada una de las concentraciones de Citrato de sodio en la producción de biomasa. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo y Citrato de sodio.

En el caso de los tratamientos con citrato de sodio, se observa en la figura 14 que el tratamiento blanco para todas las concentraciones fue el tratamiento que resultó en valores superiores, ya que produjo más biomasa en comparación con los otros. En todas las concentraciones de citrato de sodio se observa una notable diferencia en el aumento de la biomasa producida en las podas 1 y 2 en comparación con el testigo, en las podas 3 y 4 de todas las concentraciones los tratamientos de citrato de sodio mostraron un comportamiento más bajo que el del testigo.



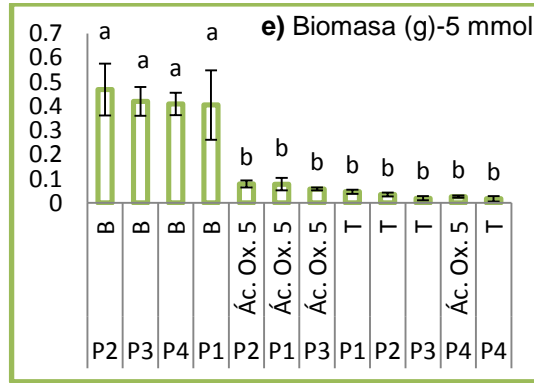
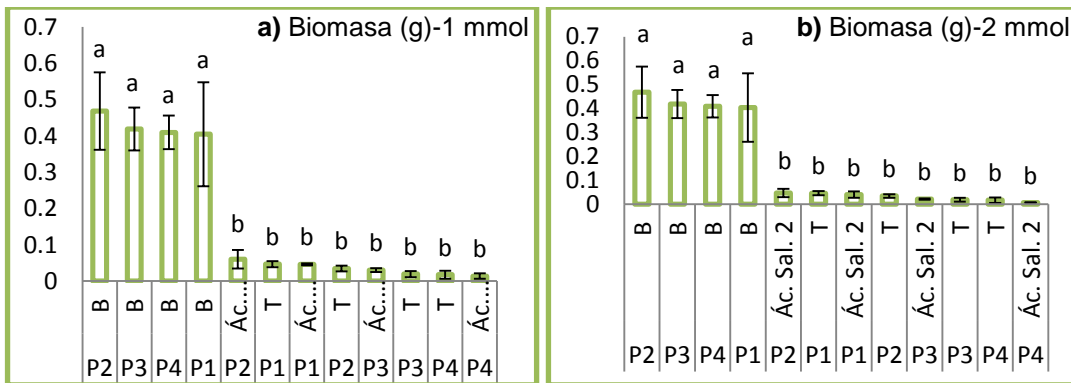


Figura 15. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por cada una de las concentraciones de Ácido oxálico en la producción de biomasa. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo y Ácido oxálico.

En el caso del ácido oxálico, los tratamientos blancos en la mayor parte del experimento fueron significativamente mayores al testigo y a los tratamientos de ligante para todas las podas. Los tratamientos con ácido oxálico a 1, 2 y 4 milimol/kg de suelo en la poda 4 no fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos de ligante, aunque a simple vista pareciese que sí. La tendencia en general observada fue que los tratamientos de ligante sí produjeron mayor cantidad de biomasa que los tratamientos testigos.



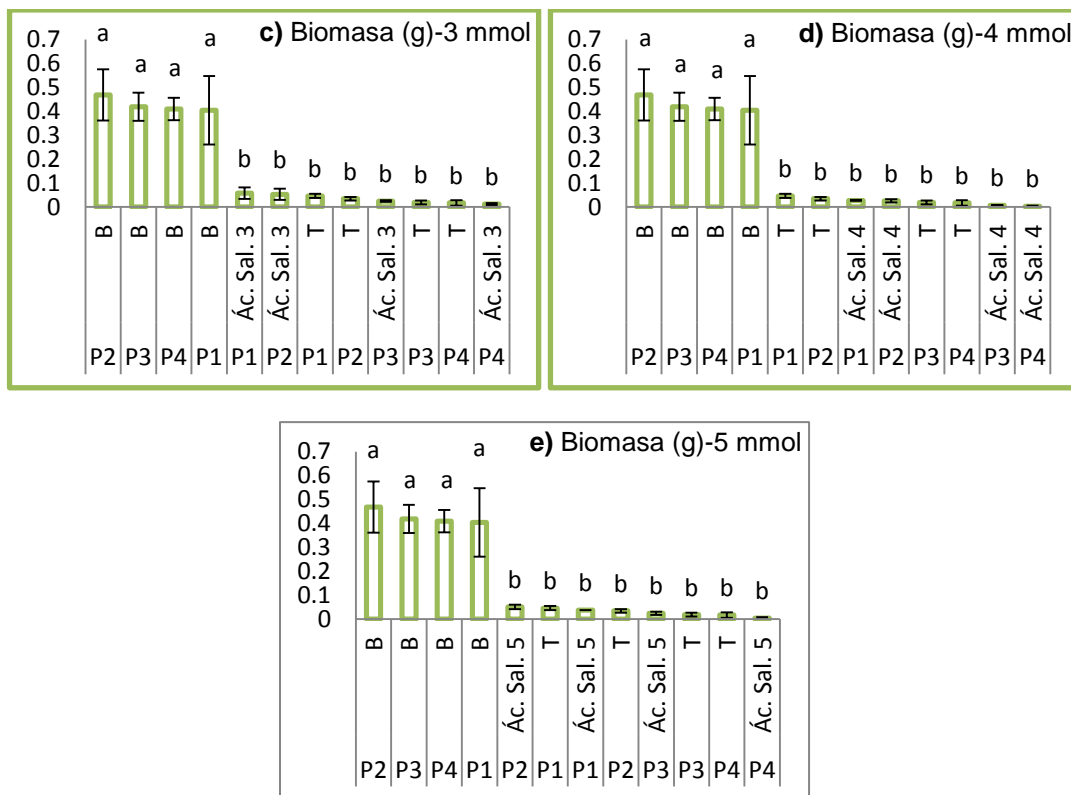


Figura 16. “Cantidad de biomasa producida y recuperada por poda (g) vs tratamientos bajo estudio”. Las gráficas corresponden al efecto causado por cada una de las concentraciones de Ácido salicílico en la producción de biomasa. Se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% entre tratamientos. Las letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos; letras iguales corresponden a que no hay diferencias. Los acrónimos corresponden a: Blanco, Testigo y Ácido salicílico.

En la figura 16 se observa que la tendencia mostrada por el citrato de sodio y el ácido oxálico se repitió para el ácido salicílico, en este caso el tratamiento blanco fue significativamente mayor al testigo y los tratamientos de ácido salicílico a todas las concentraciones. En este caso la tendencia de los tratamientos de ácido salicílico comparados con los testigos fue disminuir, es decir que en general en todas las concentraciones produjo más biomasa el testigo que el de ácido salicílico.

DISCUSIÓN

Al analizar cada tratamiento de ligante por separado se observó una tendencia y es que todos estos tratamientos produjeron biomazas muy similares a las del testigo, y no hubo diferencias significativas entre ellos; a pesar de que todos los tratamientos de jal regados con los distintos ligantes muestran un decremento de la biomasa visualmente notorio en comparación con el tratamiento testigo, dichos tratamientos en el análisis estadístico no resultaron ser significativamente diferentes, esto debido a lo explicado en la sección 3.2.1. El notorio decremento en la producción de biomasa se le atribuye a la intoxicación de la planta debido a la acumulación de complejos metálicos solubles en ella, ejemplos de

dicha situación son: el del EDTA, donde la planta murió antes de concluir el experimento o el del citrato de sodio en el cual sólo decreció la producción de biomasa.

La biodegradabilidad de los ligantes a causa de la temperatura y el medio ambiente en general también puede haber sido la causa de un menor tiempo de reacción en el medio para complejar y acumular metales en la planta, ya que ligantes de bajo peso molecular, como el caso del citrato de sodio, perderían propiedades mucho más rápido que ligantes de estructuras más complejas como en el caso del EDTA.

Clabeaux *et al.* (2013) y Evangelou *et al.* (2007) exponen que la producción de biomasa por la planta efectivamente se ve afectada por la adición de ligantes, y la concentración de los mismos. En nuestro experimento se observó lo antes mencionado, ya que a concentraciones de 4 y 5 milimoles/kg de suelo, no hubo diferencias significativas menores en la producción de biomasa en comparación con concentraciones de 1, 2 o 3 milimoles/kg de suelo, sin embargo en muchos casos visualmente los tratamientos de concentraciones elevadas sí son distintos a los de menores concentraciones.

El tratamiento blanco se mantuvo estable durante el experimento y tuvo una producción de biomasa mayor en comparación a los tratamientos con ligantes y el testigo; Komárek *et al.* (2006) mencionan un comportamiento similar en su experimento con maíz y álamo, y exponen que la biomasa producida en ambientes menos contaminados fue aproximadamente 5 veces mayor que los tratamientos expuestos a contaminantes. En este experimento la diferencia fue en promedio 4 veces más biomasa producida en el suelo prístino que en el jal.

Para cerrar esta sección se resalta la toxicidad del jal como medio de crecimiento para la planta, lo que se ve reflejado en la poca cantidad de biomasa producida por sus tratamientos, cuando por el contrario, el blanco tuvo un mucho mejor rendimiento. Lai y Chen (2004), así como Quartacci *et al.* (2007) exponen la tendencia antes mencionada y es que una mayor producción de biomasa está asociada con una menor cantidad de metales pesados extraídos por parte de una planta.

3.3. FITOEXTRACCIÓN DE COBRE

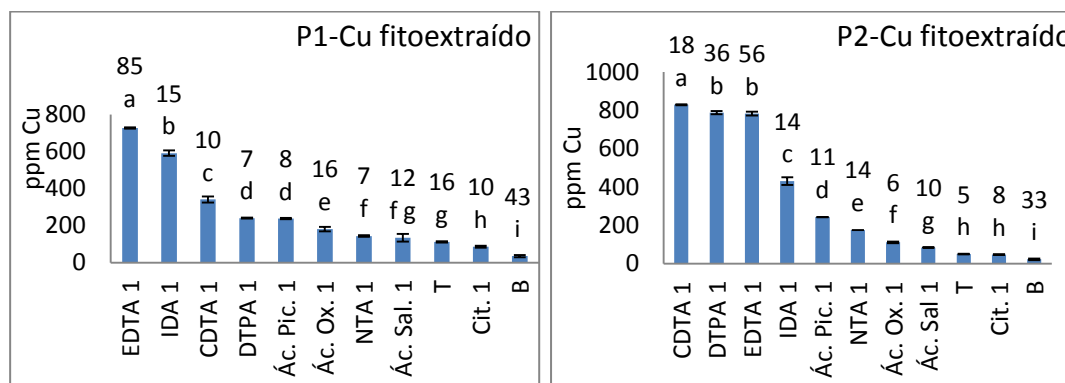
En esta segunda sección se exponen los resultados de la fitoextracción de cobre efectuada por *Festuca arundinacea* bajo los distintos tratamientos de ligantes, blanco y testigo. El análisis consta de dos partes, la primera por poda, y la segunda por concentración de ligantes.

3.3.1. Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Cu

En la figura 17 se muestra que con un milimol de ligantes/kg suelo a lo largo de las 4 podas la mayoría de los tratamientos fueron significativamente diferentes entre ellos, en este caso cada ligante tuvo comportamientos completamente distintos durante el experimento.

La adición de ligantes sí promovió la fitoextracción del cobre, de entre los ligantes el EDTA fue el que mayor concentración de cobre extrajo, sin embargo, para la última poda ya habían muerto las plantas de estos tratamientos, esa misma tendencia la siguió el CDTA. Los otros ligantes a excepción del citrato de sodio sí extrajeron mayor concentración de cobre que el tratamiento testigo y el blanco, pero sin llegar a ser comparables con el EDTA o el CDTA.

Analizando los μg totales de cobre extraído en cada tratamiento, se determinó que en efecto, el EDTA fue el ligante que mejor promovió la fitoextracción de cobre por la planta, seguido del DTPA, IDA y ácido salicílico, aunque el tratamiento blanco fue el que extrajo mayor cantidad de cobre de manera general gracias a su alta producción de biomasa.



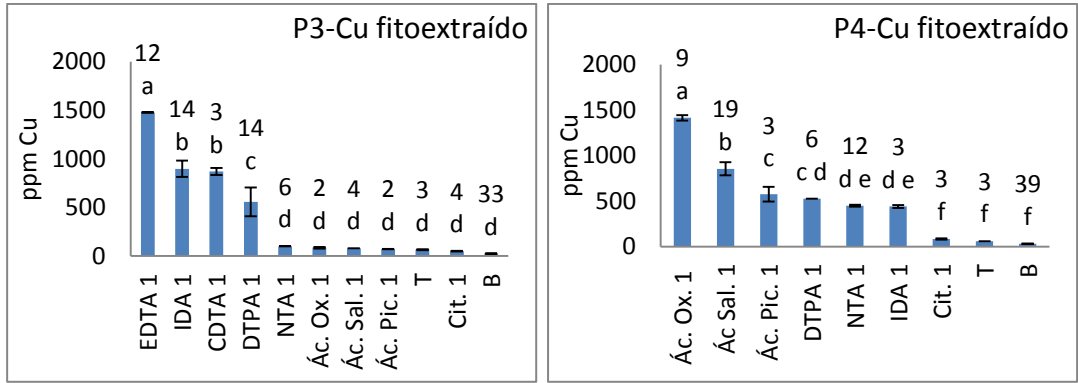
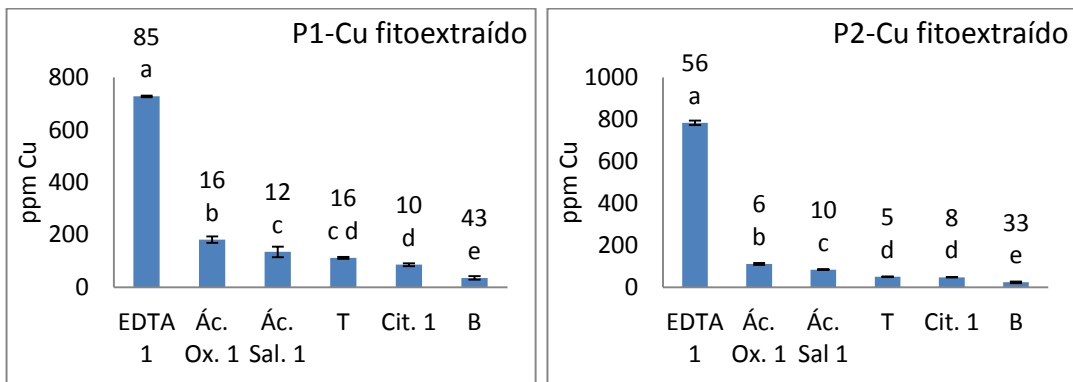


Figura 17. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

En la figura 18 se muestran los ligantes con un milimol de ligantes/kg de suelo, únicamente se muestran los tratamientos que constaron de más de una réplica.

Con la adición de un milimol de ligantes/kg de suelo, el EDTA fue el tratamiento que mayor concentración de cobre extrajo, seguido de los ácidos oxálico y salicílico, mientras que el blanco fue el que menor concentración de cobre extrajo.

Respecto a las cantidades totales de metal fue el EDTA el que más cantidad extrajo, su única desventaja es que murieron los tratamientos para la última poda. En la segunda posición se encuentra el ácido salicílico con mayor cantidad extraída que el testigo. El tratamiento blanco también extrajo cantidad notable de µg de cobre.



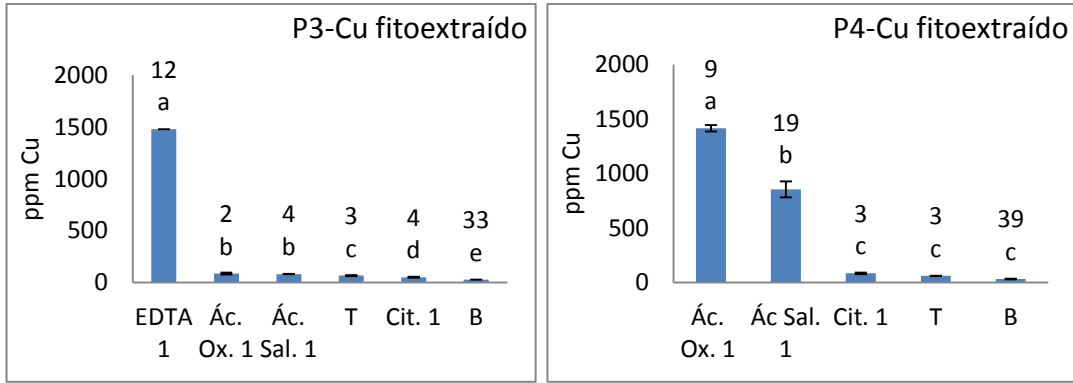
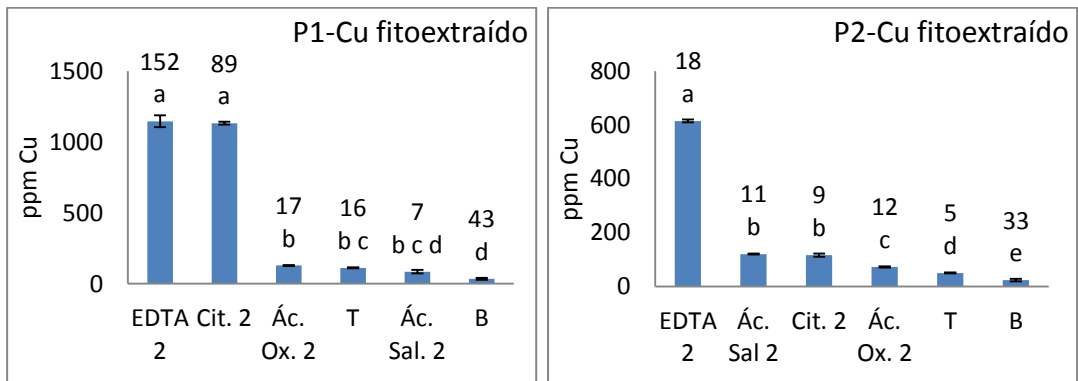


Figura 18. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de dos milimoles de ligantes/kg de suelo continuaron las diferencias significativas entre tratamientos, el EDTA fue el ligante que mayor concentración de cobre extrajo, sin embargo esta vez murieron los tratamientos desde la tercera poda. En la poda 1 el citrato de sodio por detrás del EDTA extrajo la mayor cantidad de concentración de metal, sin embargo, en la poda 2 cayó en picada hasta el tercer sitio. El ácido salicílico fue el ligante que se mantuvo más estable en sus extracciones en general por detrás del EDTA.

Con respecto a la cantidad total de cobre fitoextraído, los tratamientos de EDTA y de citrato de sodio tuvieron los mejores rendimientos al inicio del experimento, pero avanzando en las podas, el tratamiento que mantuvo medianamente constantes sus cantidades de cobre extraído fue el ácido oxálico, seguido del ácido salicílico y ambos estuvieron por encima del testigo como se observa en la figura 19.



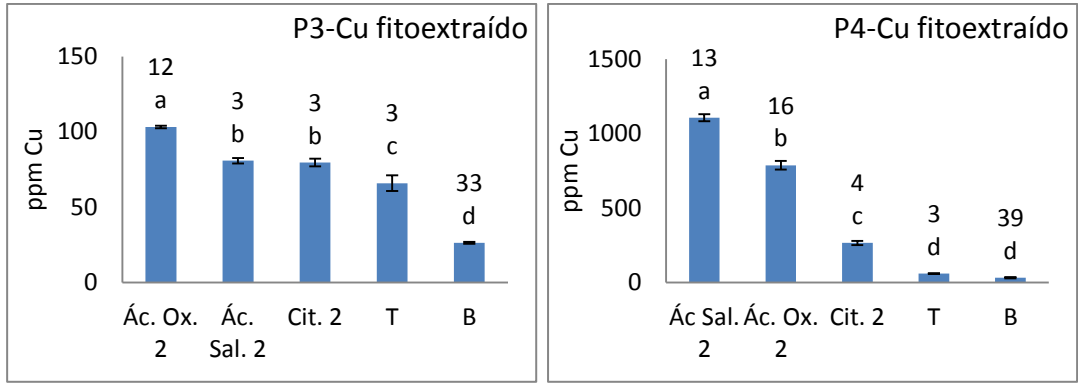
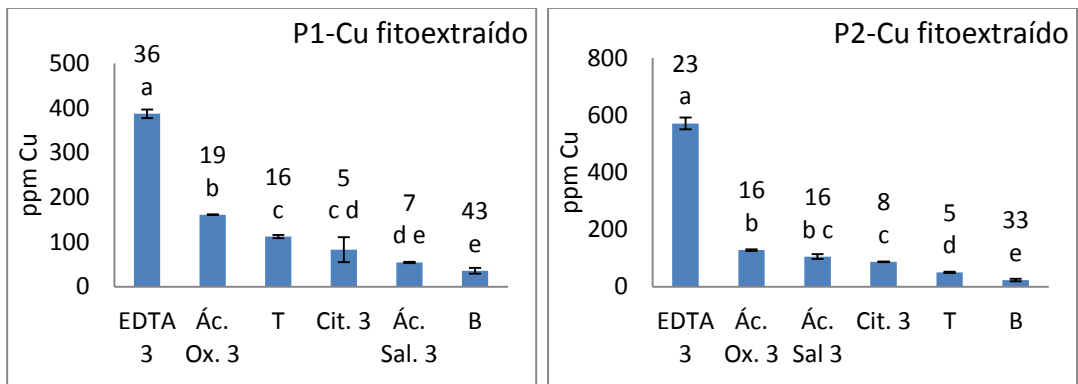


Figura 19. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 2 milimoles de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de tres milimoles de ligantes/kg de suelo, el tratamiento de EDTA continuó fitoextrayendo mayor concentración de cobre que los demás ligantes, pero también murieron sus tratamientos desde la tercera poda. El ácido oxálico y el salicílico ocupan el segundo y tercer puesto en la extracción de concentración de metal. Sucedieron oscilaciones en los tratamientos de ácido oxálico y salicílico porque en la poda 1 y 3 aparecen extrayendo menor concentración que el testigo, sin embargo en las demás podas extrajeron más que el testigo.

Con respecto a la cantidad total de metal fitoextraído el EDTA sí extrajo más que todos los ligantes, seguido de ácido oxálico y el ácido salicílico como ligantes más extractores. El tratamiento blanco por otro lado extrae metal casi a la par del EDTA, siendo que este no está en un medio de crecimiento con jal.



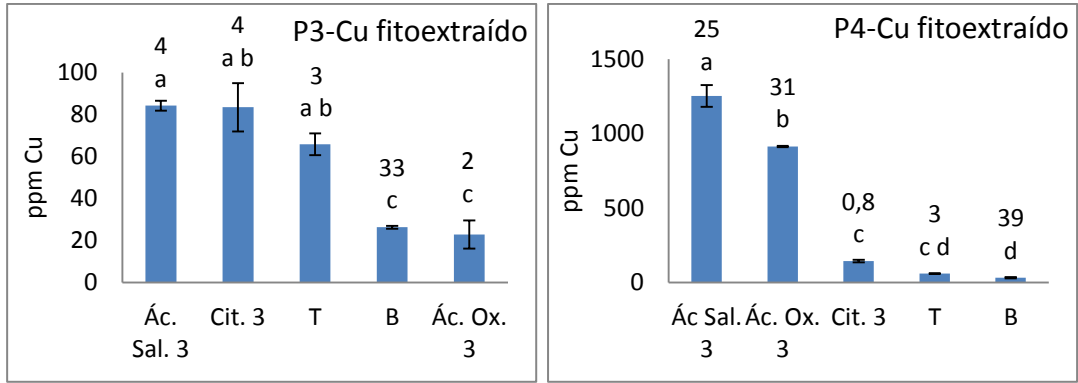
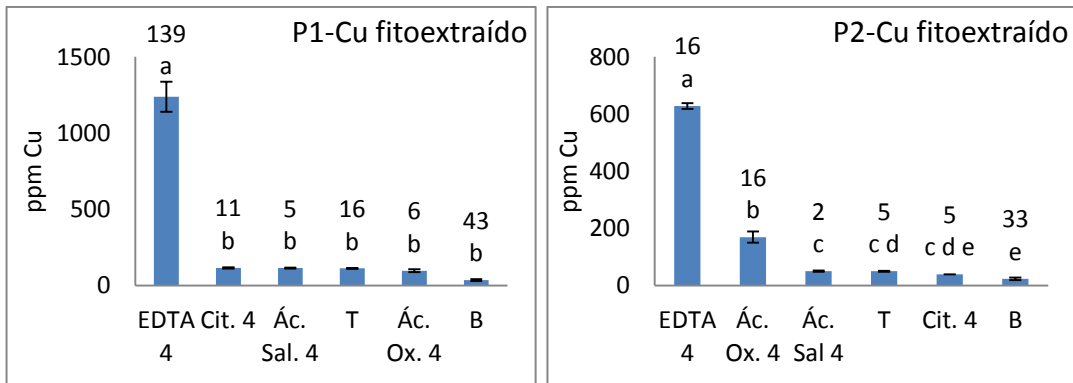


Figura 20. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 3 milimoles de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de cuatro milimoles de ligantes/kg de suelo, las diferencias significativas entre tratamientos disminuyeron a lo largo de las podas, el ligante más extractor de cobre fue el EDTA pero sólo en las primeras dos podas, a la tercera ya habían muerto sus tratamientos. El ácido oxálico por su parte no extrajo cobre al nivel del EDTA pero sí más que el testigo y los otros ligantes (a excepción de la poda 1).

Con respecto a la cantidad de metal total extraído el EDTA continuó como el ligante más efectivo extrayendo µg de cobre, seguido del ácido oxálico a lo largo de todo el experimento.



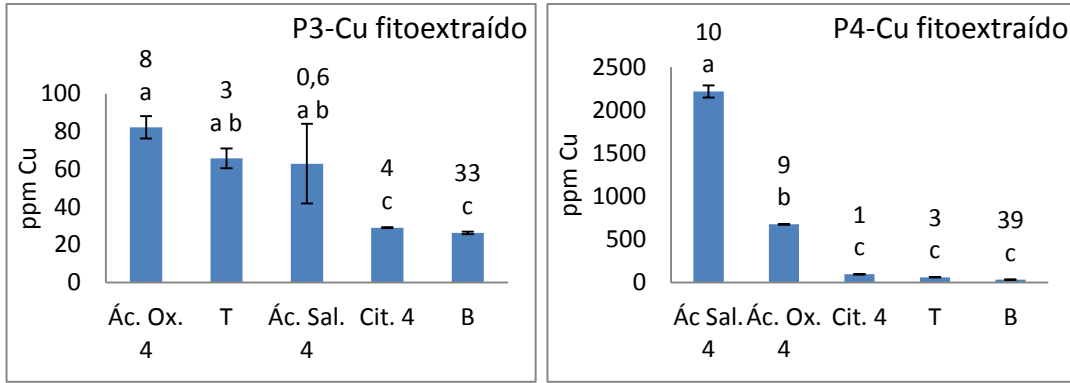
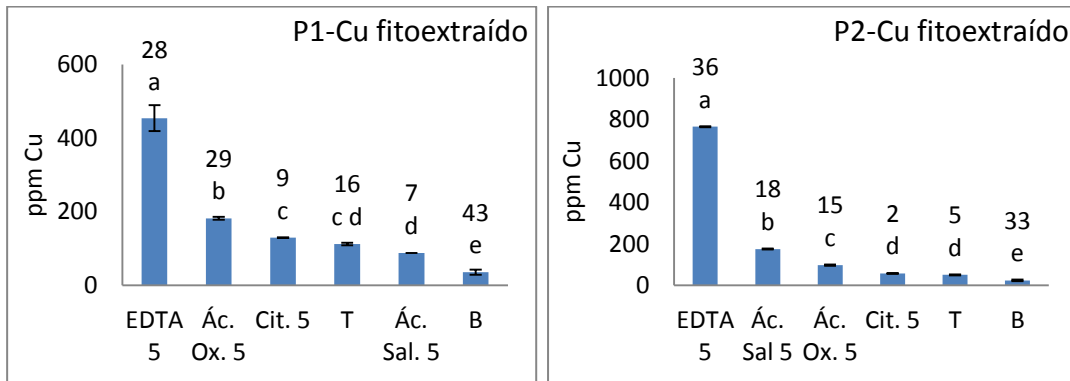


Figura 21. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 4 milimoles de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

En la figura 22 se muestran las podas para una concentración de cinco milimol de ligantes/kg de suelo, el ligante que mayor concentración de cobre extrajo una vez más fue el EDTA, pero con su desventaja de perder tratamientos rápidamente. El ácido oxálico y el salicílico se disputan el segundo puesto en la extracción de la concentración de cobre después del EDTA aunque ambos ligantes variaron mucho entre podas.

La mayor cantidad de metal total la posee el ácido oxálico por encima del EDTA, ya que este ligante tuvo en todas sus podas cantidades muy cercanas a las del EDTA, además de haber durado todo el experimento.



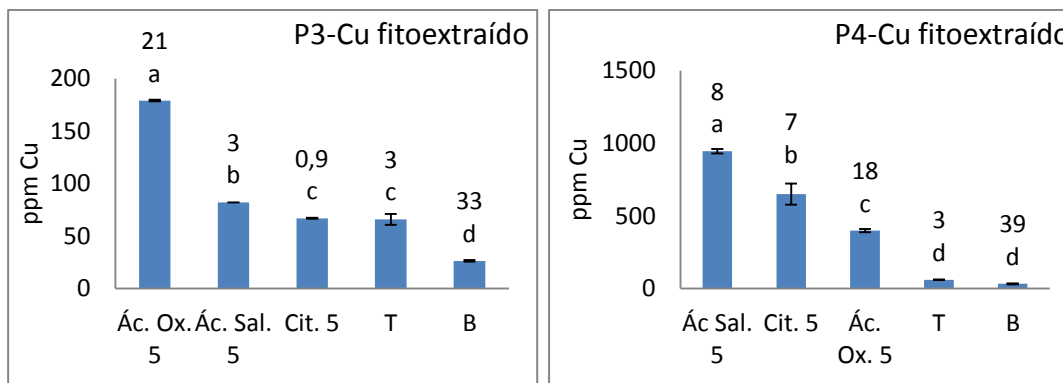


Figura 22. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 5 milimoles de ligante/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cobre totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

DISCUSIÓN

En la fitoextracción de cobre los ligantes sí promovieron la absorción de metal, arrojando gran cantidad de diferencias significativas entre los tratamientos, el mejor caso sin duda fue el EDTA que extrajo mayor concentración y también mayor cantidad de cobre, pero con una gran desventaja y es que fue un ligante muy fitotóxico el cual sus tratamientos tuvieron una muy baja producción de biomasa además de haber perdido tratamientos temprano en el experimento debido a su fitotoxicidad. Otro ligante eficiente a primera vista pero de igual forma fitotóxico es el CDTA, de características similares al EDTA ambos ligantes fuertes, polidentados y con altas constantes de formación de complejos como lo mencionan Lai & Chen (2004). Komárek *et al.* (2010) apoyan también la idea anterior enfatizando que ligantes de estructura similar a la del EDTA ayudan mucho a la fitoextracción gracias a su alta tasa de complejación de metales.

Hubo casos como el del ácido oxálico y el salicílico que no fueron los ligantes más efectivos aunque también promovieron la extracción de cobre, tanto en concentración como en cantidad, la ventaja de estos dos ligantes sobre el EDTA o el CDTA es que son mucho menos fitotóxicos para la planta y produjeron más biomasa que los antes mencionados, además de haber mantenido sus tratamientos vivos durante todo el experimento.

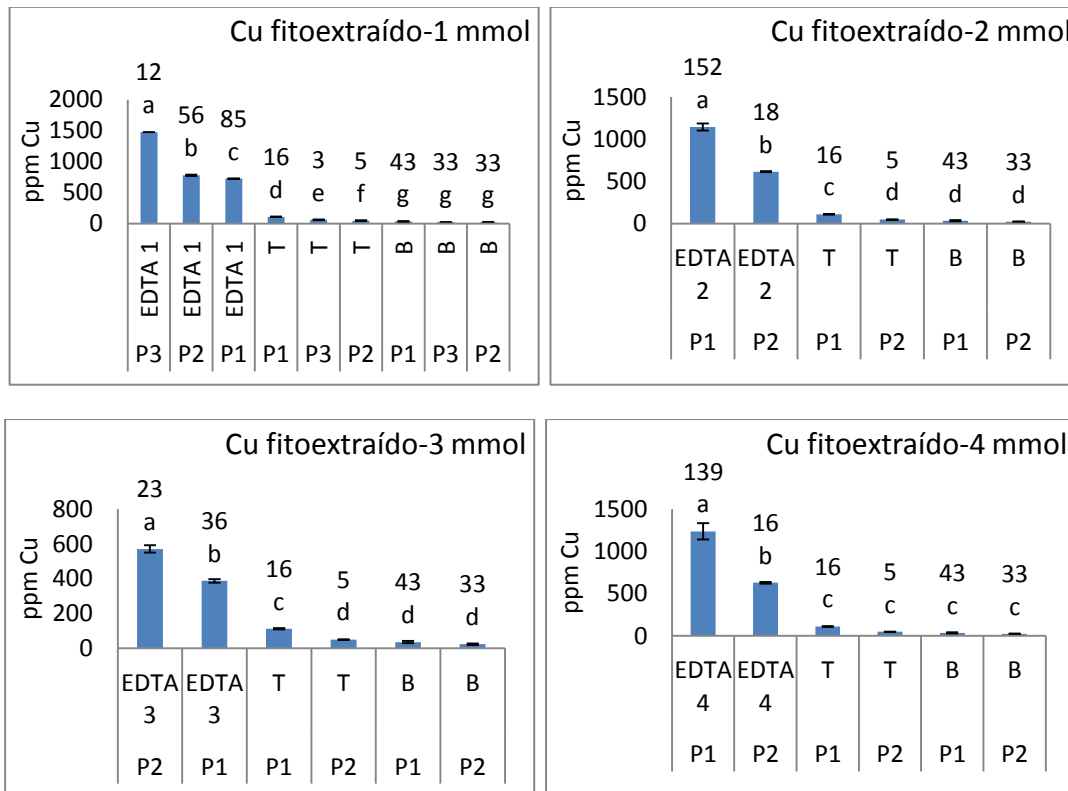
Hubo ligantes con un rendimiento intermedio, como lo son el DTPA, NTA e IDA para la extracción de cobre, sin embargo al sólo haber tenido una réplica, éstos no se consideraron tanto como los que tuvieron más réplicas. Estos tres ligantes tuvieron extracción similar a la de los ácidos oxálico y salicílico en concentración y también en cantidad.

Evangelou *et al.* (2007) mencionan que el NTA (a 1.8 milimol/kg de suelo) al ser un ligante altamente biodegradable no promovió la absorción de Zn, Cd o Cu en girasoles, pero tampoco trae consigo efectos fitotóxicos graves.

3.3.2. Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Cu

En la figura 23 se muestran las diferencias significativas del EDTA en sus cinco concentraciones, testigo y blanco. La tendencia general fue que siempre extrajo mayores concentraciones de cobre que el testigo y que el blanco.

La cantidad total de cobre también siguió el patrón antes mencionado pero sólo con respecto al testigo, ya que el blanco sí extrajo mucho cobre aunque no estuvo en el mismo medio de crecimiento que el testigo o los tratamientos con ligantes. Otra tendencia del EDTA es que siempre en la poda 1 extrajo más μg de metal y conforme avanzaron las podas la cantidad fue decreciendo.



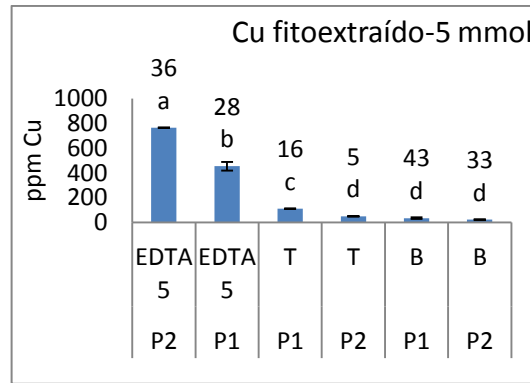
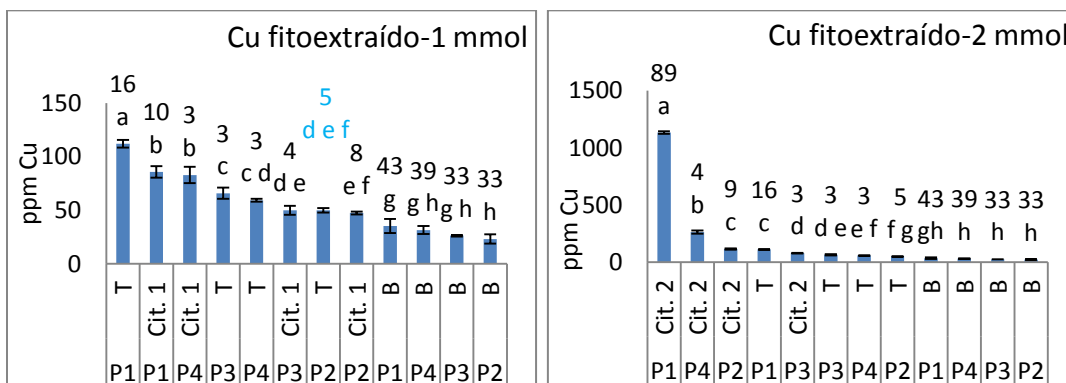


Figura 23. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio EDTA”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cobre en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido etilendiamotetraacético.

Para el citrato de sodio existieron gran número de diferencias significativas entre los tratamientos, la tendencia de este ligante fue subir y bajar en la concentración de cobre extraída con respecto al testigo, en general siempre fue mayor al blanco. Durante la poda 1 con dos milimoles y la poda 4 con cinco milimoles de ligantes/kg de suelo arrojó una extracción de la concentración de cobre muy alta (1100 y 620 ppm respectivamente) pero cesó rápidamente su rendimiento.

Con respecto a la cantidad de cobre total, las cantidades que se observan en la figura 24 son muy similares entre el citrato de sodio y el testigo, pero los tratamientos testigo tuvieron una mayor cantidad de μg de metal extraídos.



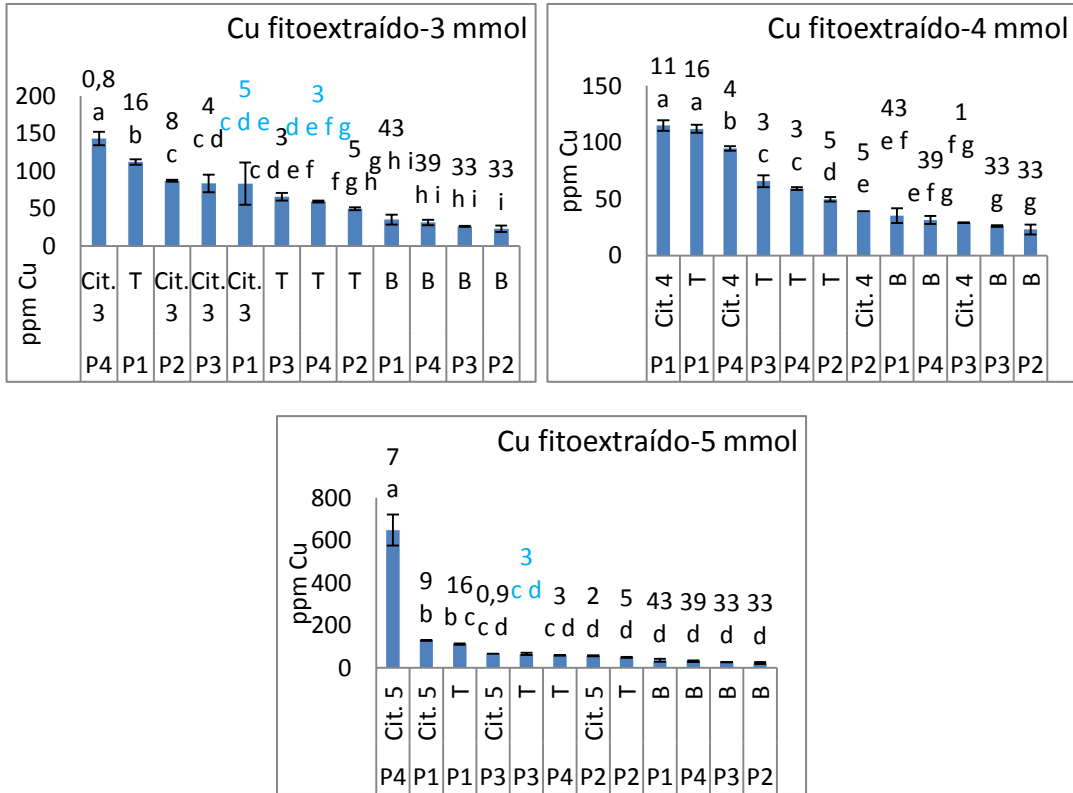


Figura 24. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Citrato de sodio”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Citrato de sodio.

Para el caso del ácido oxálico, este ligante en general sí extrajo mayor concentración de cobre que el testigo y el blanco en todas las condiciones, hubo diferencias significativas entre los tratamientos, pero los tratamientos de ácido oxálico sin duda fueron los de mejor desempeño. Este suceso se dio de menos a más a través del tiempo, es decir, empezó disminuido en la poda 1 y acabo extrayendo mucho más en la poda 4 de todas sus concentraciones. Se observa una posible tendencia aumento a largo plazo.

La cantidad de metal total extraída fue mejor para el tratamiento blanco, promoviendo así la acumulación de mayor cantidad de metal que el testigo y el ligante, la cantidad extraída del ligante a tres milimoles/kg de suelo en la poda 4 fue la única que se asemejó a las de los tratamientos blanco.

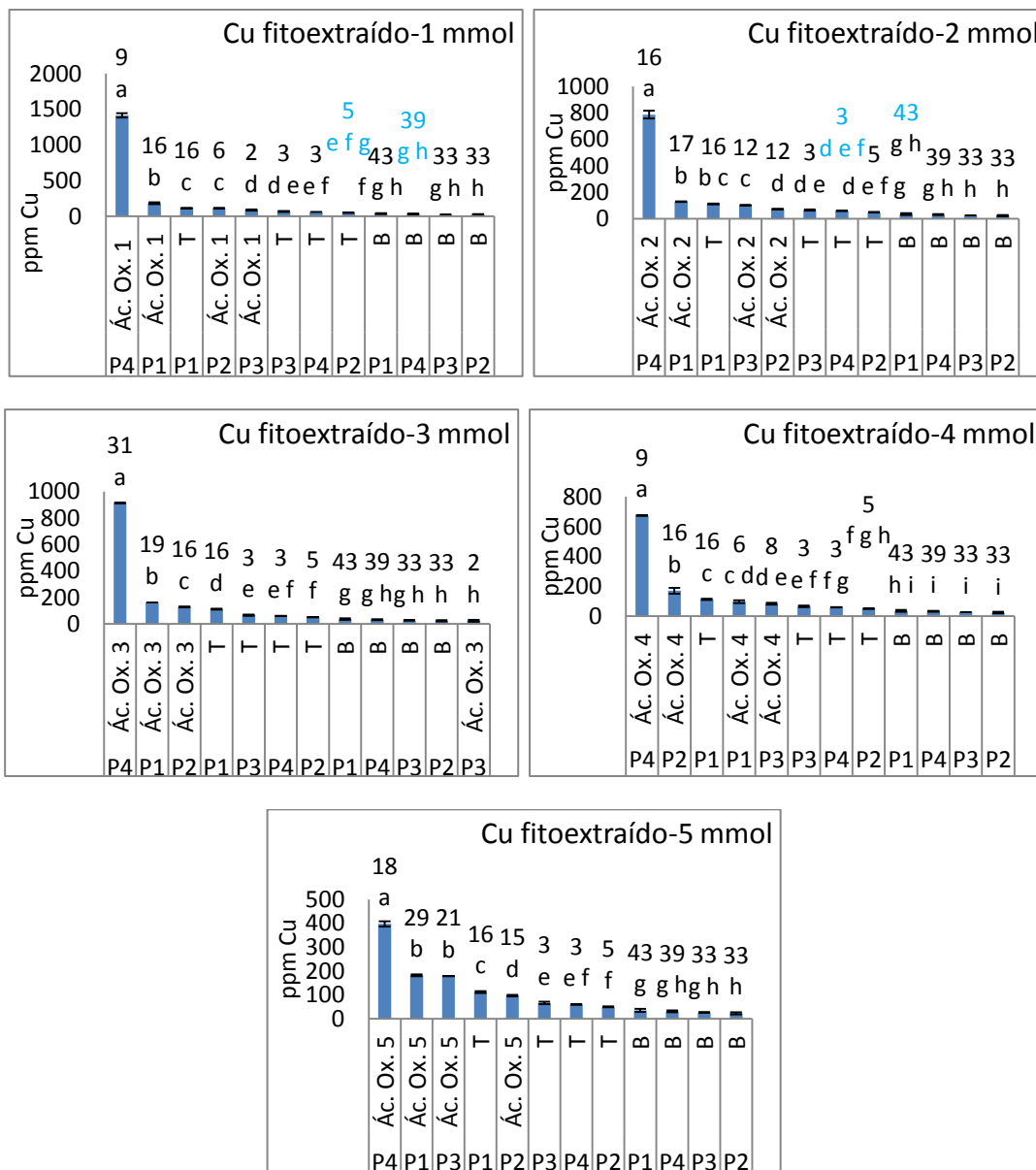


Figura 25. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido oxálico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido oxálico.

Para el caso del ácido salicílico hay diferencias significativas con respecto al testigo y al blanco y el comportamiento fue muy similar al del ácido oxálico, ya que extrajo mayor concentración de cobre en general que su testigo en sus podas número 4 y en todas sus

concentraciones fue el tratamiento más extractor. De igual forma se podría observar una tendencia a subir en la concentración extraída a largo plazo.

La cantidad de metal total extraído no varió mucho entre los tratamientos de ácido salicílico en las diversas concentraciones, pero sí varió con respecto al testigo y al blanco. El tratamiento blanco fue el que más cantidad de cobre extrajo de manera global.

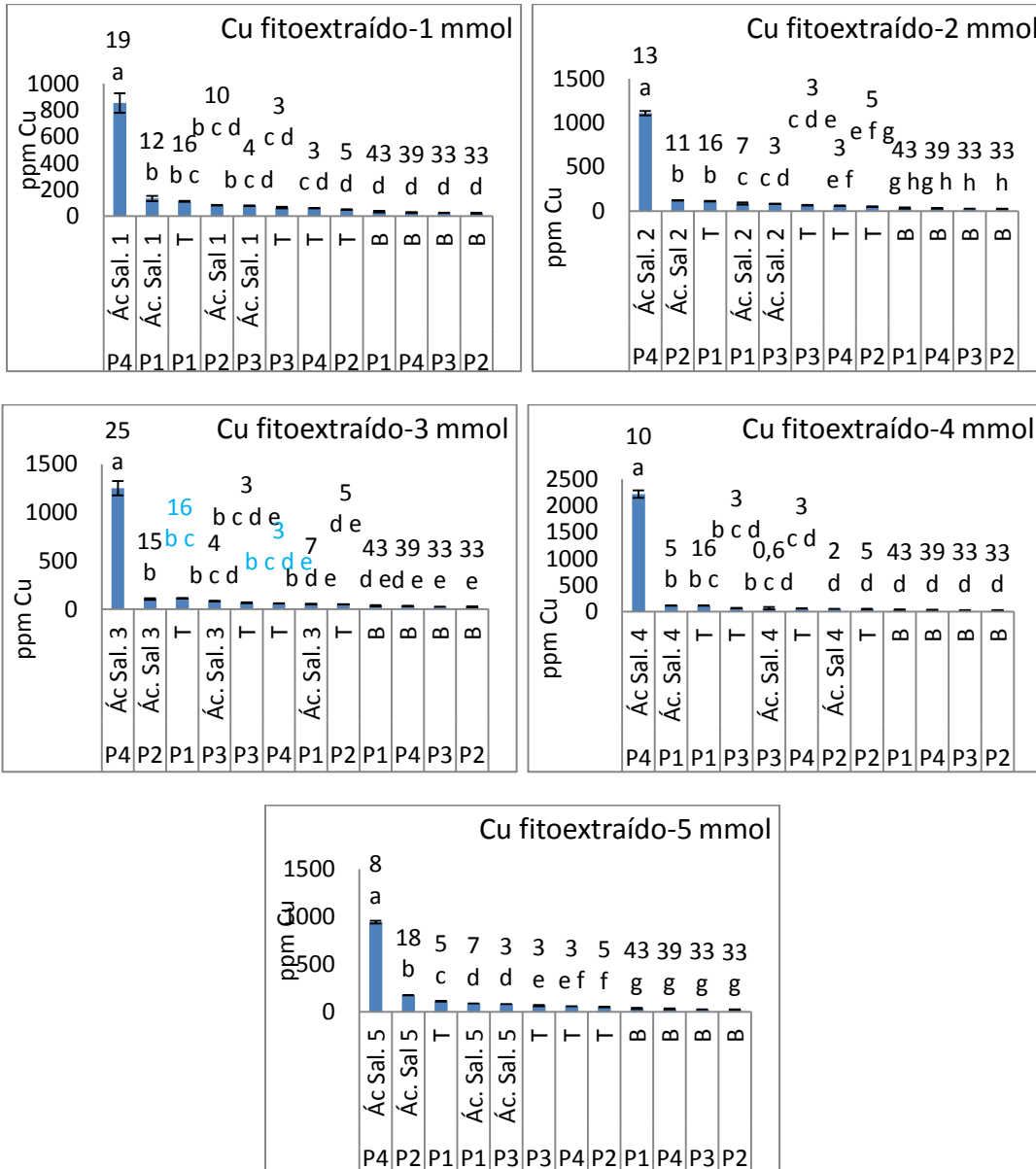
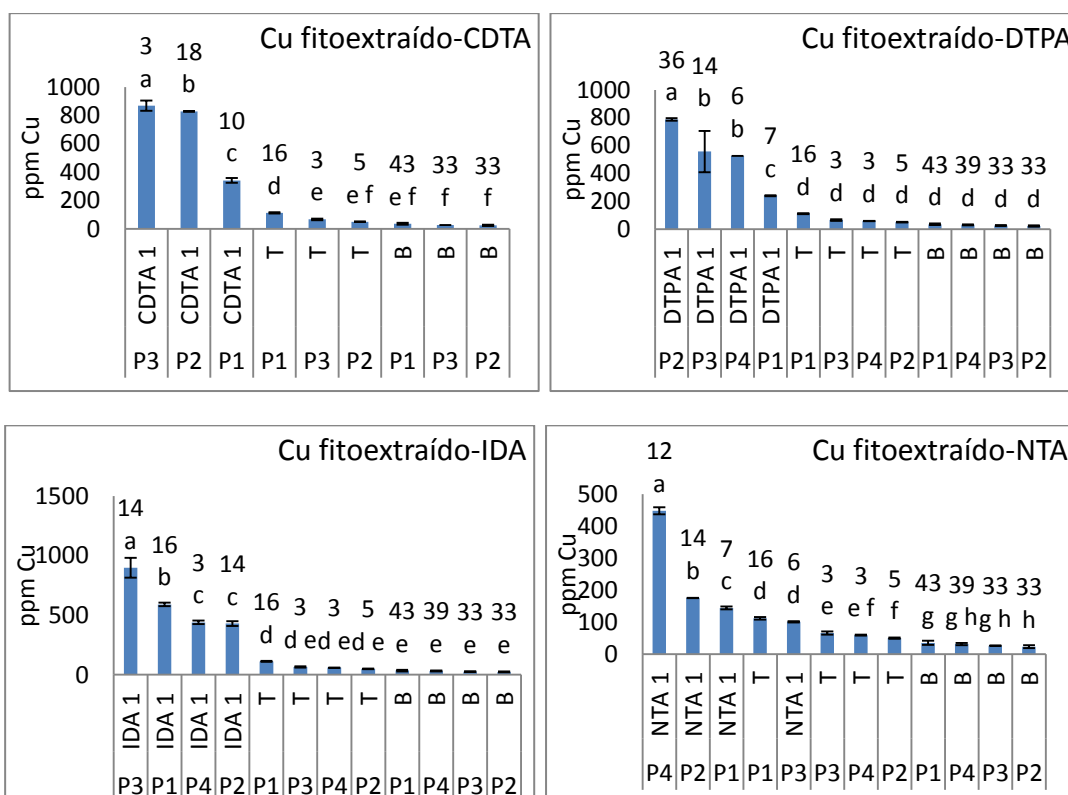


Figura 26. "Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido salicílico". Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las barras las cantidades totales en µg de cobre en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido salicílico.

Los tratamientos de CDTA, DTPA, IDA, NTA y ácido picolínico sí promovieron mayoritariamente la extracción de la concentración de cobre en comparación con el testigo y el blanco. Los ligantes de menores rendimientos en la extracción de cobre fueron el ácido picolínico y el NTA (sólo en la poda 4 ambos tuvieron un rendimiento muy elevado, extrayendo aproximadamente 500 ppm de cobre). El CDTA presentó un comportamiento similar al del EDTA ya que su tratamiento murió para la poda 4, siendo una desventaja para éste.

Los ligantes más extractores en cantidad fueron el DTPA, IDA y NTA en comparación con el testigo, pero no contra el blanco que tuvo el mejor desempeño en cuanto la extracción de µg de cobre.

Algo interesante con estos tratamientos es que sólo tuvieron una réplica y algunos de ellos extrajeron más cantidad de metal que ligantes poseedores de más réplicas, además su producción de biomasa fue considerable para sólo haber tenido una réplica. Los detalles antes descritos los colocan como buenas opciones para futuros experimentos.



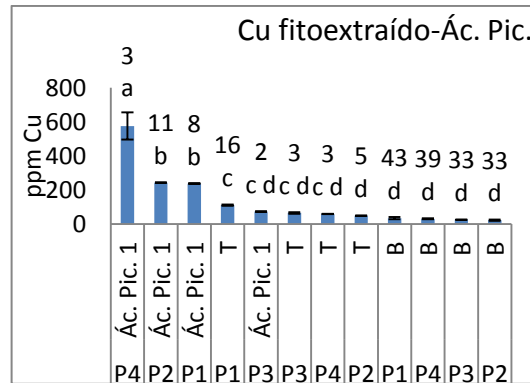


Figura 27. “Concentración de cobre fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio CDTA, DTPA, IDA, NTA y Ácido Picolínico con 1 milimol de ligantes/kg de suelo”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cobre en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentiainopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

DISCUSIÓN

En la fitoextracción de cobre, ligantes como el EDTA y el ácido oxálico trabajaron mucho mejor a bajas concentraciones, ya que al momento de aumentar la concentración en el caso del EDTA murieron sus tratamientos y en el caso del ácido oxálico sólo bajó el rendimiento en la extracción de metal. Caso contrario sucedió con el ácido salicílico que al aumentar su concentración tuvo mejores rendimientos de extracción que a bajas concentraciones.

El citrato de sodio no tuvo relevancia en la fitoextracción de cobre, salvo dos despuntes fugaces con dos y cinco milimoles. El DTPA, CDTA e IDA destacan como posibles candidatos a examinar en experimentos posteriores debido a los prometedores resultados mostrados fitoextrayendo cobre.

El tratamiento blanco fitoextrajo muy poca concentración de cobre en comparación con la mayoría de los ligantes, sin embargo éste los superó con respecto a las cantidades totales de metal extraído, esto debido a la gran cantidad de biomasa que produjo. Este comportamiento se puede deber a que el cobre al ser un nutriente se almacena de manera natural y en mayor cantidad por la planta (la cantidad de cobre es directamente proporcional a la biomasa).

En general la adición de ligantes para la extracción de cobre sí causó un aumento en las diferencias significativas entre tratamientos, caso contrario al de la producción de biomasa.

3.4. FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO

En la tercera sección se expone el análisis de la fitoextracción de plomo efectuada por *Festuca arundinacea* con los distintos tratamientos de ligantes, blanco y testigo. El análisis consta de dos partes, la primera por podas y la segunda por concentración de ligantes.

3.4.1. Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Pb

En la figura 28 se observa la comparación entre todos los ligantes con un milimol/kg de suelo y las múltiples diferencias significativas que estos presentaron, el EDTA fue quien mayor concentración de plomo extrajo durante el experimento, seguido del CDTA y DTPA. La desventaja de estos ligantes es que se quedaron sin tratamientos al llegar a la poda 4, con excepción del DTPA.

En la poda 1 varios ligantes extrajeron menor concentración de plomo que el testigo, de la poda 2 a la poda 4 el único tratamiento que siguió esa tendencia fue el citrato de sodio. En general la adición de ligantes sí promovió la fitoextracción de plomo. El blanco fue el tratamiento que menor concentración de plomo extrajo durante todo el experimento.

El EDTA también fue el tratamiento que mayor cantidad de plomo extrajo, el CDTA y el DTPA también extrajeron cantidades considerables al haber constado de sólo una réplica. Por otro lado, ligantes como el ácido oxálico y salicílico extrajeron plomo en general mejor que el testigo y los otros ligantes pero sin ser cantidades tan altas como el caso del EDTA.

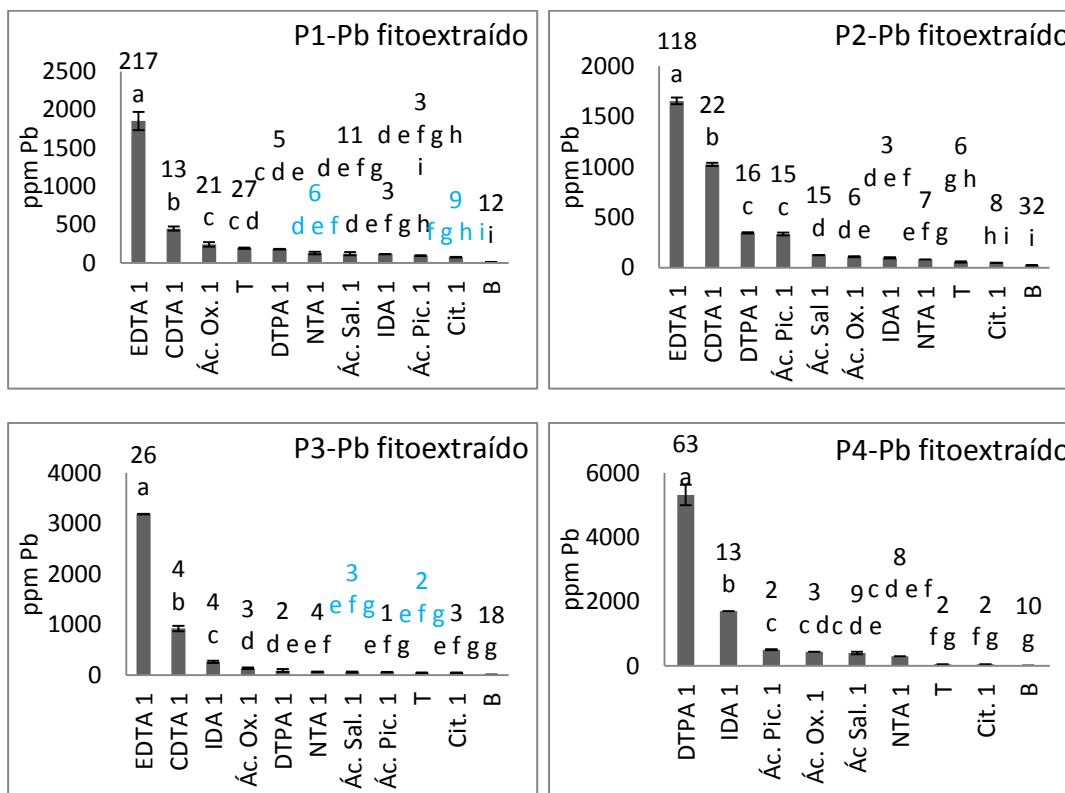


Figura 28. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N ', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

De los tratamientos con más de una réplica, con un milimol de ligantes/kg de suelo, el EDTA es por mucho el mejor ligante para extraer plomo, con el inconveniente de que sus tratamientos mueren antes de acabar el experimento.

De igual forma el EDTA fue el ligante que mayor cantidad de plomo extrajo, otros ligantes que también extrajeron plomo, pero en mucho menor medida fueron el ácidos oxálico y el salicílico.

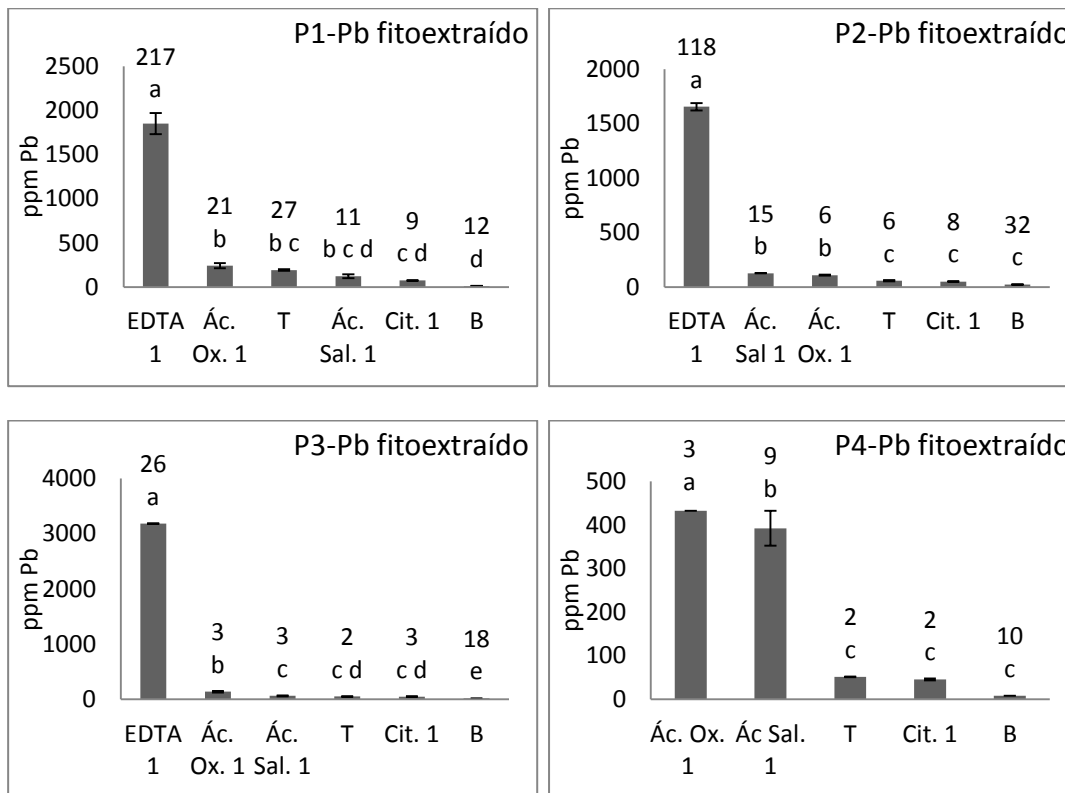


Figura 29. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de dos milimoles de ligantes/kg de suelo, la mayoría de los tratamientos fueron significativamente diferentes, el EDTA extrajo mayor concentración de plomo que los otros ligantes, sin embargo continuó perdiendo tratamientos a partir de la poda 3. El citrato de sodio, el ácido oxálico y el salicílico ocuparon el segundo puesto como tratamientos que mayor concentración de plomo extrajeron después del EDTA cambiando de lugar constantemente a lo largo del experimento.

Igualmente el EDTA fue el tratamiento que mayor cantidad de metal extrajo, pero duró poco en el experimento. En general el citrato de sodio y el ácido oxálico tuvieron un rendimiento medianamente bueno en comparación con los demás ligantes que no extrajeron cantidades muy distintas a las del testigo. El tratamiento blanco extrajo cantidades de plomo mayores a las de algunos ligantes debido a su gran cantidad de biomasa producida, a pesar de no concentrar mucho plomo en su biomasa.

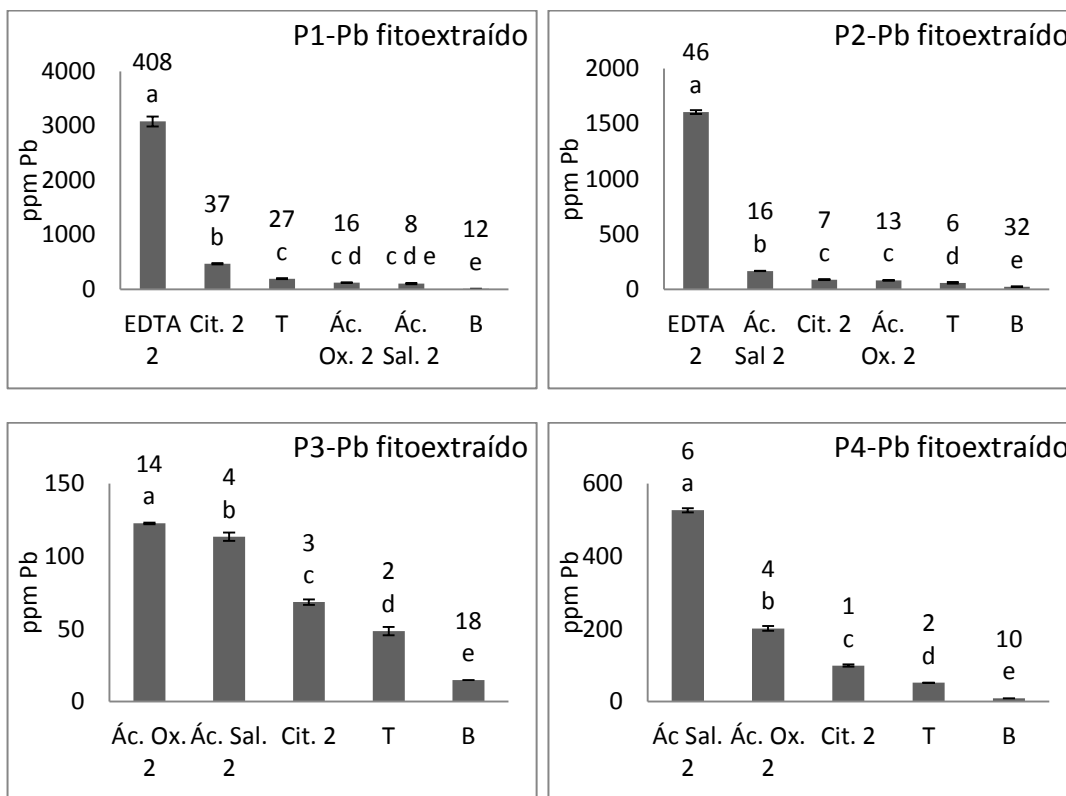


Figura 30. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 2 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de tres milimoles de ligantes/kg de suelo, bajó el rendimiento en la extracción de la concentración de plomo para todos los tratamientos con ligantes, a pesar de lo antes mencionado, el tratamiento de EDTA continuó encabezando la mayor concentración de plomo extraído; los demás tratamientos tuvieron en la poda 1 y 3 sus más bajos desempeños estando por debajo del testigo en la extracción.

El tratamiento de EDTA fue también el mejor con respecto a la mayor cantidad extraída de metal con su desventaja de perder tratamientos rápidamente. El tratamiento de ácido oxálico figura también como un candidato a ser mejorador químico en la extracción de plomo, aunque con menores rendimientos que el EDTA y el blanco, que una vez más debido a su gran cantidad de biomasa producida extrajo cantidades considerables de plomo.

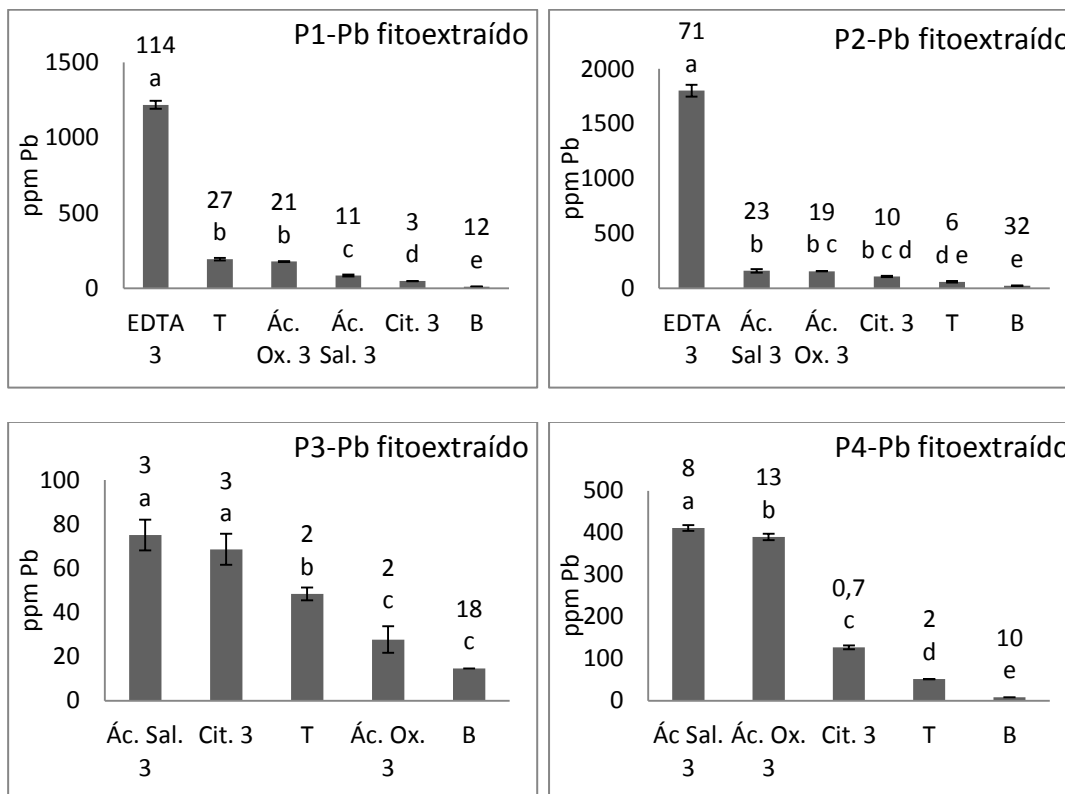


Figura 31. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 3 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

En la figura 32 se muestra el comportamiento de los tratamientos con cuatro milimoles de ligantes/kg de suelo, se observa que el tratamiento de EDTA extrajo mayor concentración de plomo, pero al perder sus tratamientos rápidamente también perdió efectividad. Los otros tratamientos con ligantes tuvieron un rendimiento bajo durante todo el experimento apareciendo inclusive por debajo del testigo en la extracción de la concentración de plomo.

Con respecto a la cantidad total extraída de metal el tratamiento de EDTA fue el mejor prospecto, ningún otro tratamiento extrajo cantidades comparables con él y el testigo. En el caso del plomo bajó el rendimiento de extracción en las cantidades totales para los tratamientos blanco, en comparación con el cobre.

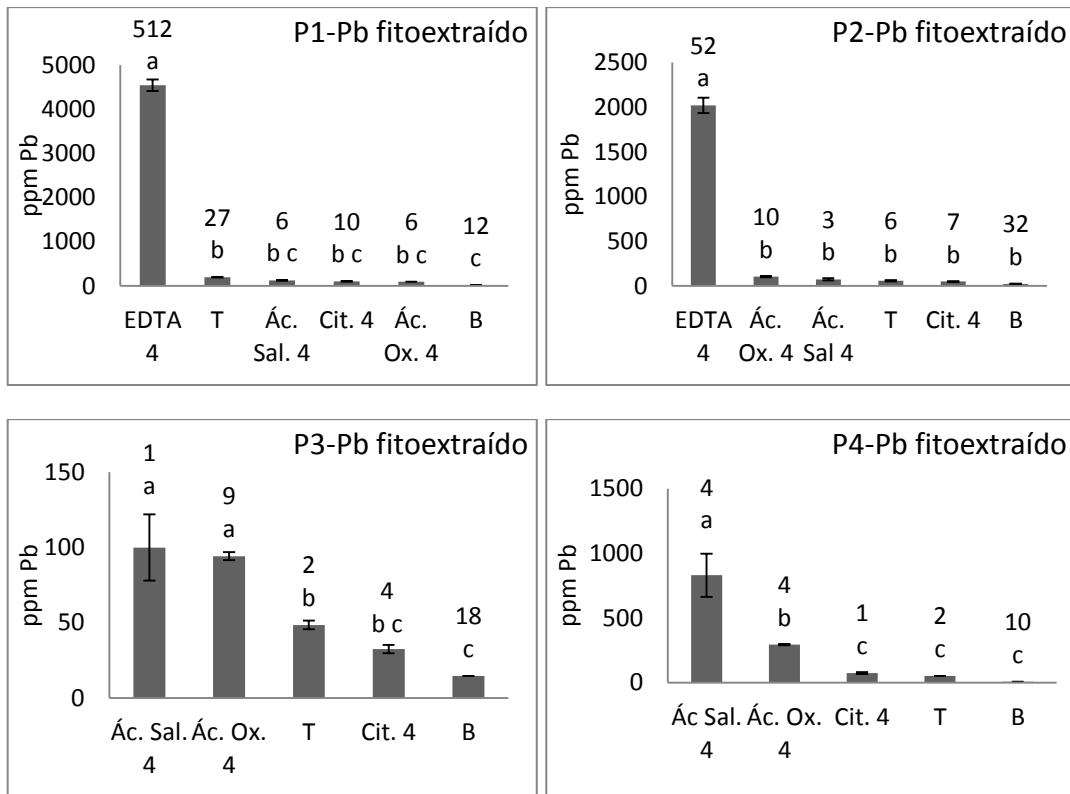


Figura 32. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 4 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de cinco milimoles de ligantes/kg de suelo, el tratamiento de EDTA tuvo el mejor rendimiento en la extracción de la concentración de plomo, en la poda 1 fue el único tratamiento significativamente diferente comparado con los demás, y al avanzar en las podas las diferencias significativas entre tratamientos aumentaron; detrás del EDTA figuraron el ácido oxálico y salicílico (exceptuando la poda 1) con un menor rendimiento.

En lo que respecta a la cantidad total de metal, el EDTA fue el tratamiento más efectivo, el ácido oxálico y el salicílico extrajeron mucho menor cantidad de plomo, pero estos dos tratamientos no variaron mucho durante el experimento. Por su parte el citrato de sodio se mantuvo muy similar al testigo hablando de la extracción total de metal.

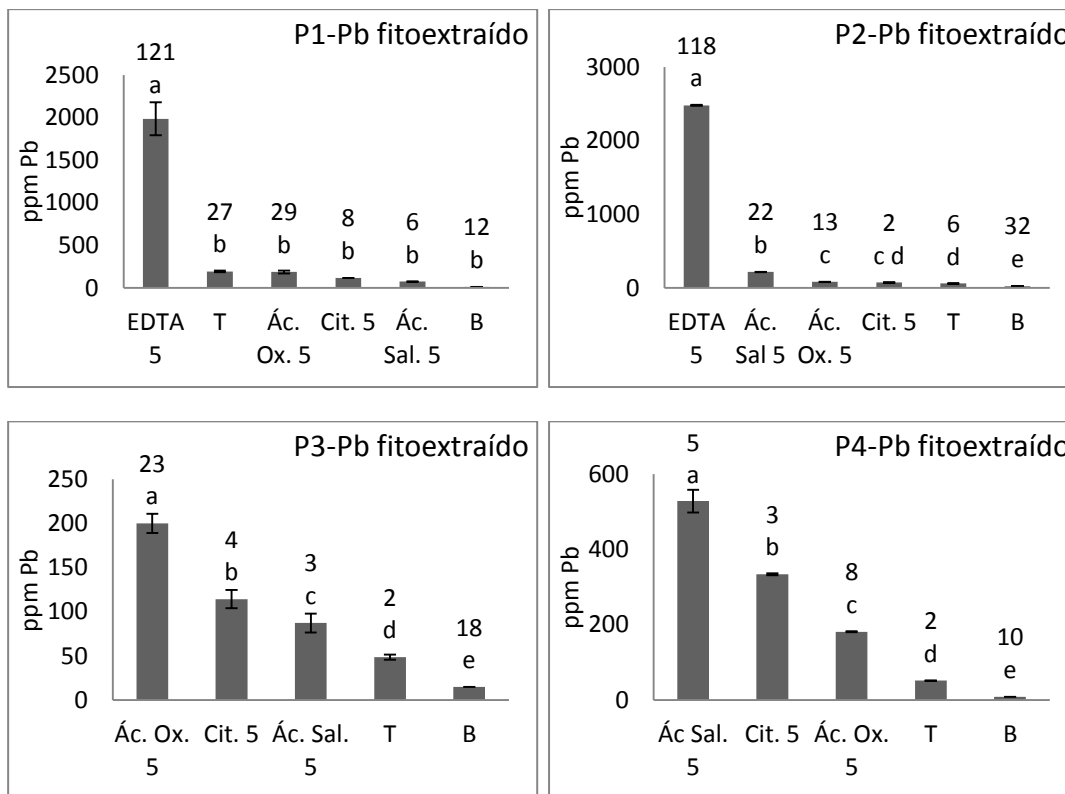


Figura 33. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 5 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de plomo totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

DISCUSIÓN

Para el plomo al igual que para el cobre el tratamiento de EDTA fue el de mejor desempeño, su única desventaja es su fitotoxicidad. A menores concentraciones tuvo mejores rendimientos que a altas concentraciones, sin embargo a cuatro milimoles de ligante/kg de suelo, extrajo mucho más plomo que a cualquier otra concentración; esto no es un caso raro si se considera que a mayor concentración, más metal se compleja e introduce en la planta, aunque también intoxica en mayor medida a la planta. Según lo descrito por Evangelou *et al.* (2007) en los experimentos de Grcman *et al.* (2001), Epstein *et al.* (1999) y Chen & Cutright (2001) se muestran comportamientos similares en sus resultados al obtenido en este experimento en cuanto al decremento de biomasa por fitotoxicidad por plomo usando al EDTA como agente quelante.

Los tratamientos de ácido salicílico y de ácido oxálico figuran como posibles candidatos exitosos en el caso de la fitoextracción de plomo porque alcanzaron concentraciones y cantidades de metal relativamente altas y sin intoxicar en gran medida a la planta. Según Evangelou *et al.* (2007) los ácidos orgánicos de bajo peso molecular producidos por la misma planta (ácido cítrico, ácido oxálico, etc.) tienen la función de transportar iones y nutrientes esenciales para un buen crecimiento, y justamente tienen la capacidad de desintoxicar a la planta de metales pesados vía complejación cuando existe un estrés a causa de los mismos, esto tiene relación con la relativamente buena producción de biomasa, la concentración y cantidad extraída de metales.

Al igual que en el caso del cobre, para el plomo, el DTPA, CDTA e IDA fueron ligantes que mostraron resultados prometedores en sus evaluaciones para futuras pruebas.

3.4.2. Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Pb

Analizando únicamente a los tratamientos de EDTA observamos las diversas diferencias significativas que presentaron sus tratamientos en las distintas concentraciones, siempre fue superior que el testigo y el blanco extrayendo mayor concentración de plomo y no sólo eso, sino también en las cantidades totales de metal extraído en su biomasa total. Otra tendencia observada es que a lo largo del avance en el experimento la cantidad total de plomo fue disminuyendo, esto debido a la poca producción de biomasa.

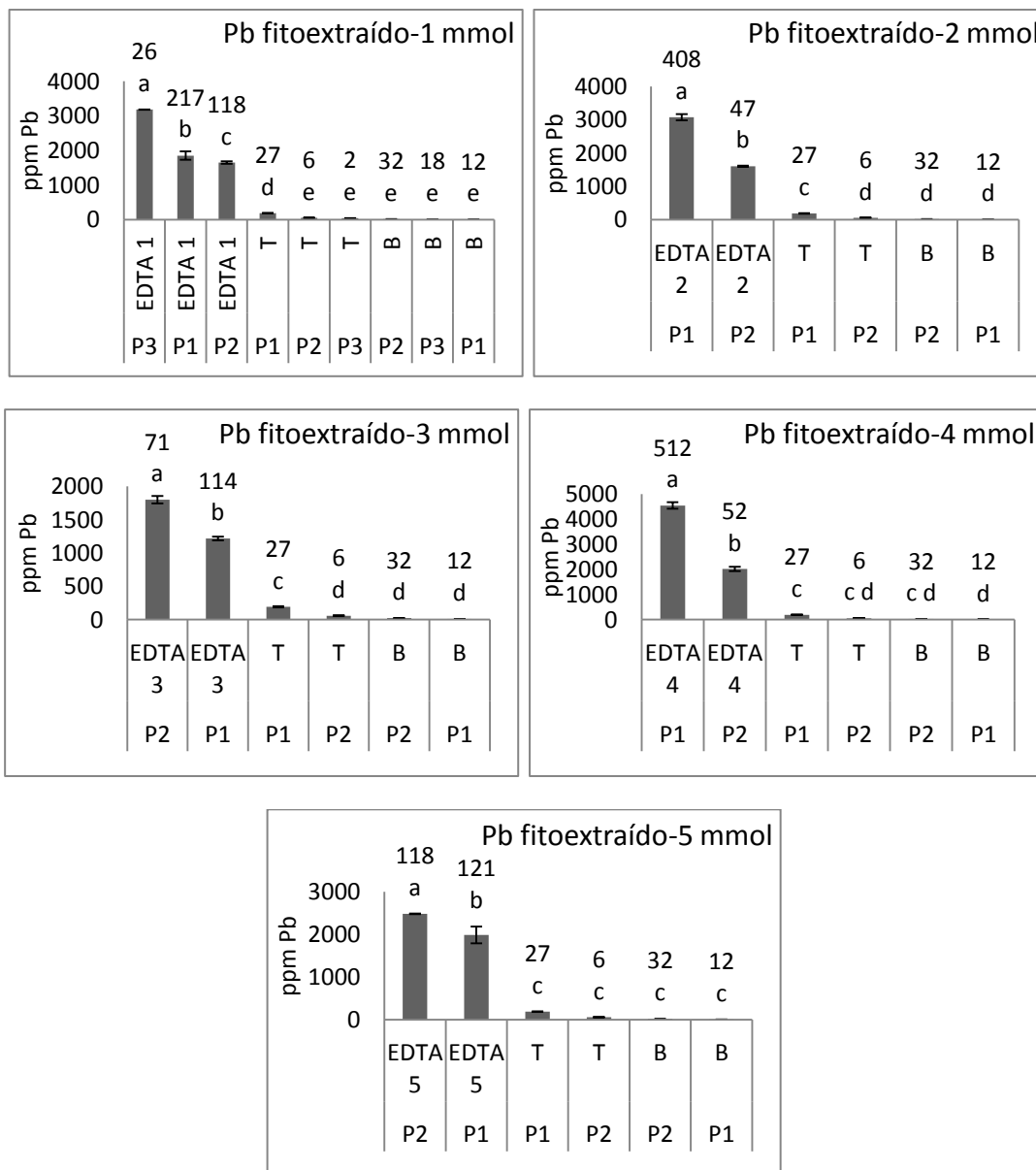


Figura 34. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio EDTA”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido etilendiamotetraacético.

El tratamiento de citrato de sodio en todas sus concentraciones tuvo un comportamiento muy similar, como se observa en la figura 35 el tratamiento de citrato de sodio y el testigo mostraron diferencias claras en las concentraciones extraídas de plomo, por su parte el tratamiento blanco tendió a extraer muy poca concentración de este metal.

Con respecto a la cantidad total de plomo extraído el tratamiento testigo en la poda 1 en todas las concentraciones siempre fue el que más metal extrajo, sólo con una excepción a 2 milimoles de ligante/kg de suelo, en la que el citrato de sodio poda 1 extrajo más μg de plomo. De manera general el citrato de sodio no tuvo éxito como ligante que ayudara a la promoción de la absorción de plomo, se comportó muy similar al testigo durante el experimento.

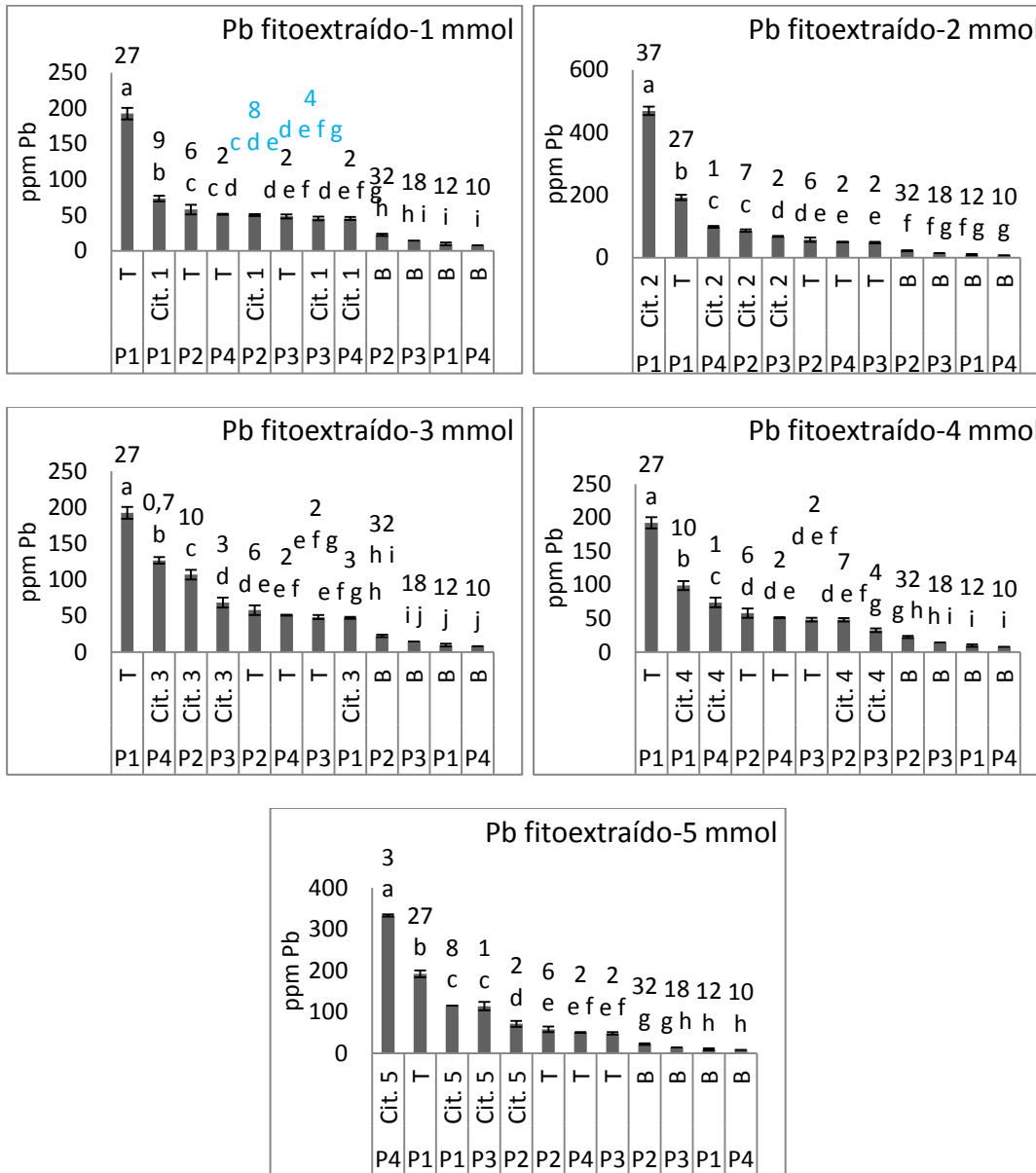
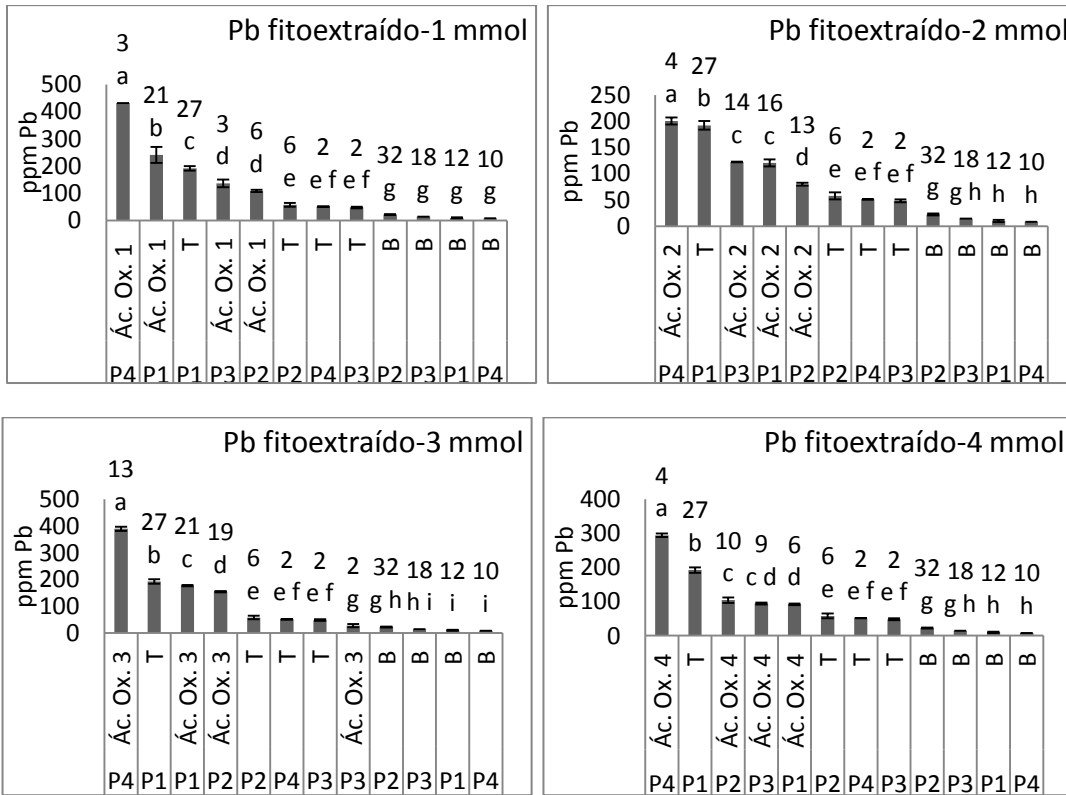


Figura 35. "Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Citato de sodio". Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de plomo en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Citrato de sodio.

Los tratamientos de ácido oxálico sí se comportaron mejor que el testigo y el blanco en la extracción de la concentración de plomo, en la mayoría de los casos estos tratamientos fueron significativamente superiores al testigo y al blanco. El tratamiento testigo únicamente en la poda 1 sobresalió en la extracción de la concentración de plomo y luego fue decayendo gradualmente.

Lo que respecta a las cantidades totales de plomo, de manera general el ácido oxálico funcionó por encima del testigo e inclusive llegó a extraer cantidades similares al blanco (que contó con mucha más biomasa producida). Las concentraciones de uno y tres milimoles de ligante/kg de suelo fueron las dos más efectivas en este aspecto.



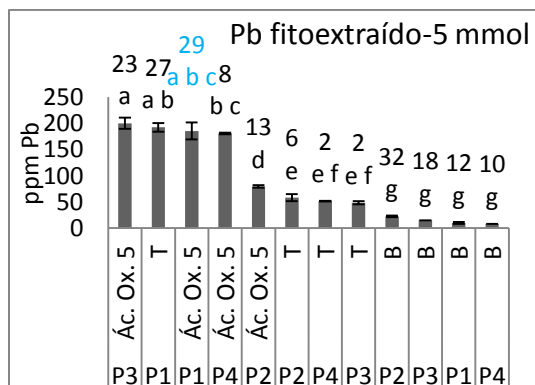
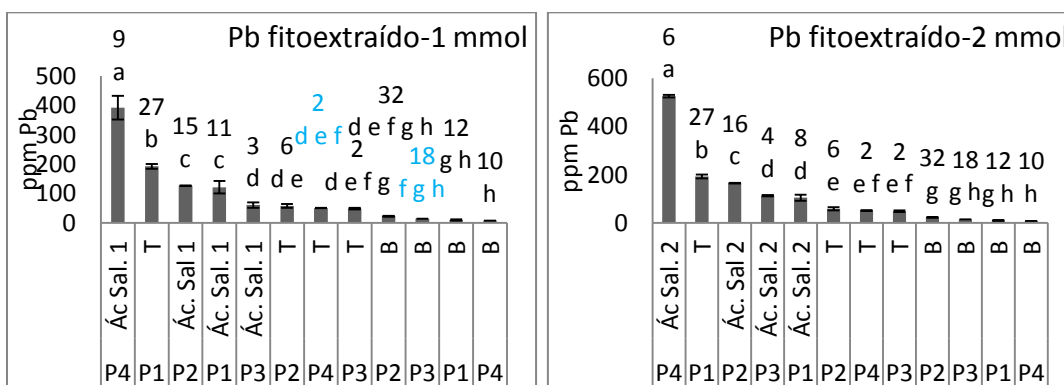


Figura 36. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido oxálico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de plomo en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido oxálico.

Los tratamientos de ácido salicílico fueron efectivos en la extracción de la concentración de plomo en comparación con el testigo y el blanco. Los tratamientos de ligante, el testigo y el blanco fueron significativamente diferentes en todas las concentraciones y podas.

La cantidad total de metal extraído también fue mayor en el caso de los tratamientos de ácido salicílico que en el del testigo (en la mayoría de los casos), e incluso fue muy similar al blanco. Si se compara el caso anterior del ácido oxálico, éste tuvo un mejor rendimiento en general porque se mantuvo estable en la extracción de μg de metal durante todo el experimento y en todas las concentraciones, en cambio el ácido salicílico decayó a través de las podas y en sus diversas concentraciones.



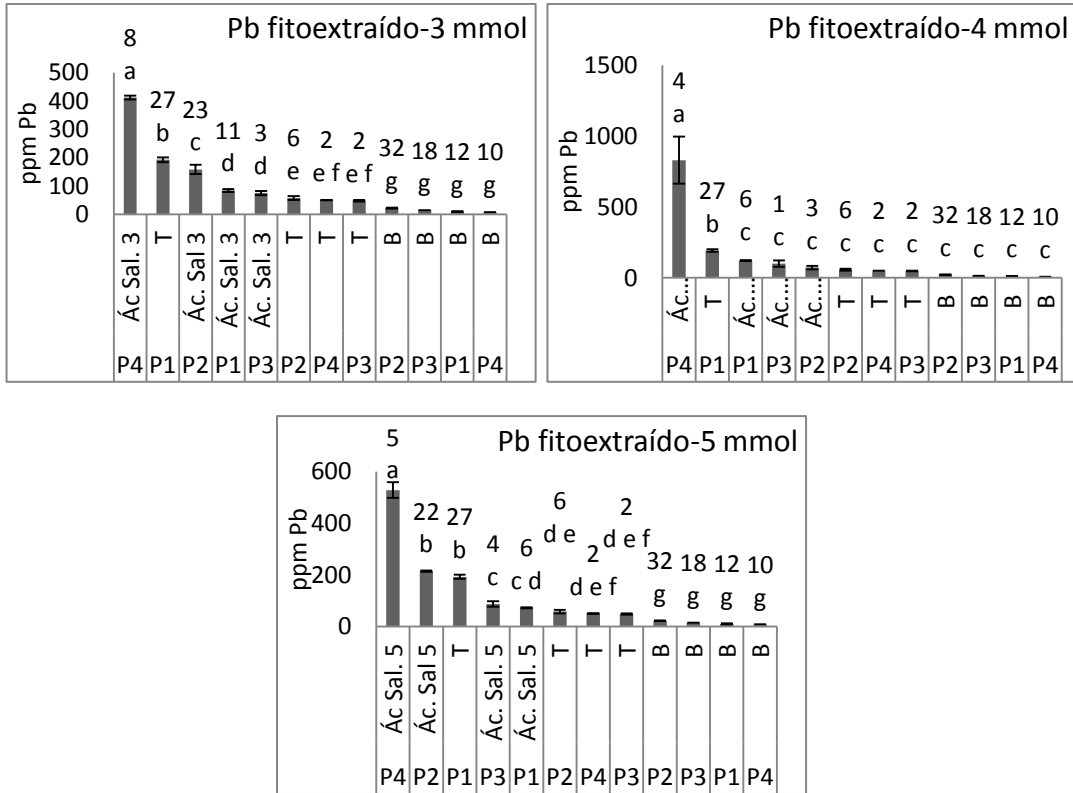


Figura 37. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido salicílico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido salicílico.

De los ligantes que sólo tuvieron una réplica, todos los tratamientos fueron significativamente diferentes al testigo y al blanco, los tratamientos que mayor concentración de plomo extrajeron fueron el DTPA, IDA y CDTA. El caso del DTPA y el IDA tienen una particularidad, y es que en la poda 4 hubo una muy marcada elevación en la extracción de la concentración de plomo que desvarió de la tendencia mostrada en otras podas. Para el caso de los otros tratamientos de ligantes, estos no extrajeron concentraciones tan elevadas de plomo, sin embargo sí lo hicieron mejor que el testigo.

El DTPA y el CDTA fueron por su parte los tratamientos que mayor cantidad de plomo extrajeron para sólo haber tenido una réplica, además sus rendimientos de extracción fueron bastante altos, incluso si se compara con el EDTA (que fue el de mejor desempeño extractor). Los demás tratamientos de ligantes en realidad no extrajeron cantidades muy distintas al testigo durante el experimento.

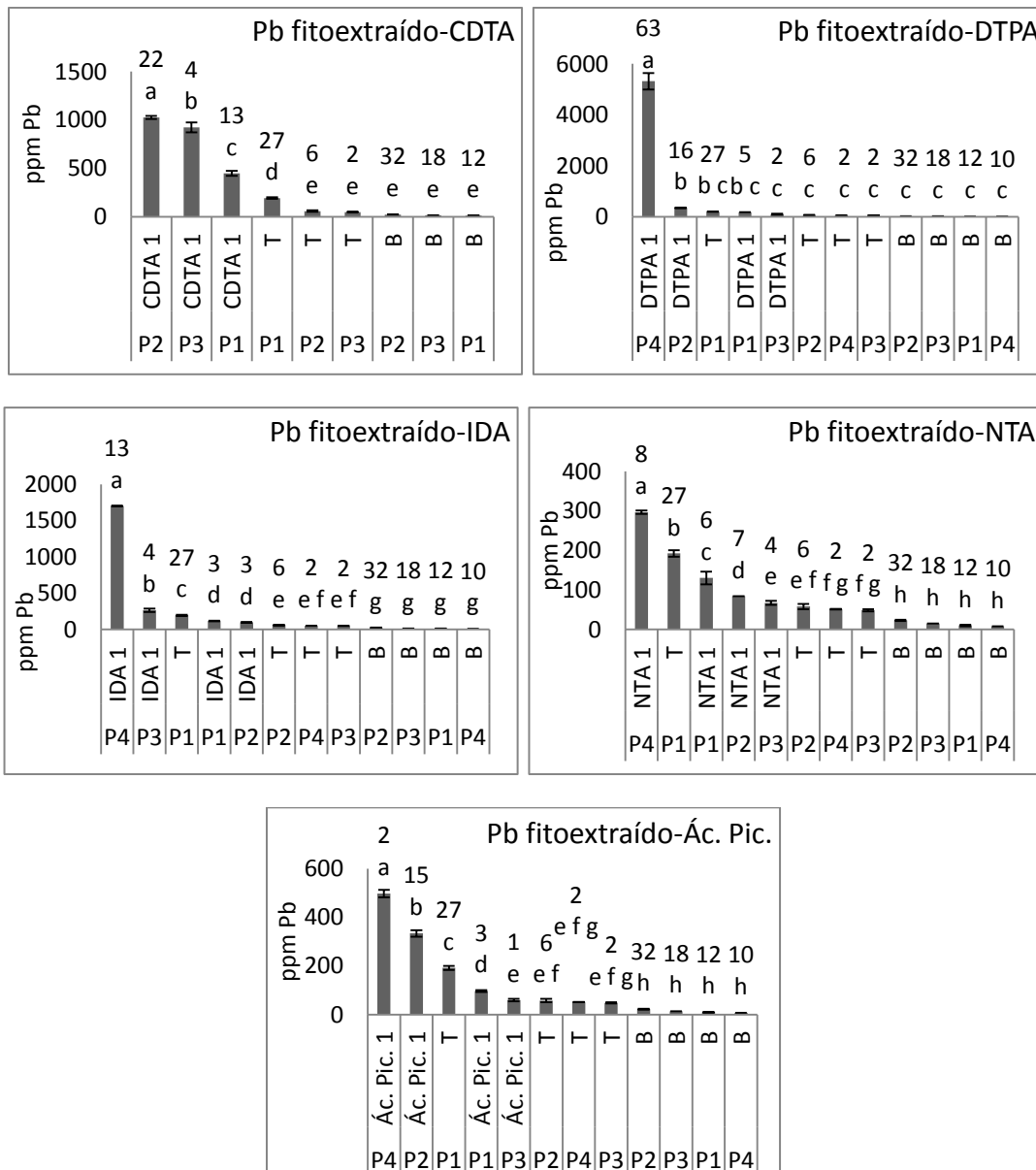


Figura 38. “Concentración de plomo fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio CDTA, DTPA, IDA, NTA y Ácido Picolínico 1 milimol de ligantes/kg de suelo”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de plomo en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

DISCUSIÓN

Las concentraciones para los tratamientos de EDTA y de ácido oxálico más óptimas para la fitoextracción de plomo fueron uno y dos milimoles, con las cuales se desempeñaron de mejor manera. El ácido salicílico tuvo un comportamiento similar al del ácido oxálico, a uno y tres milimoles extrajo mayor concentración de plomo pero por una o dos podas máximo.

El DTPA, CDTA e IDA mostraron buena extracción tanto en concentración como en cantidad de plomo fitoextraído, una desventaja fue que solamente contaron con una réplica y no se pudo estudiar a fondo su comportamiento. Los tratamientos con el desempeño menos variable fueron el IDA y el CDTA por encima del DTPA que sólo en una poda despuntó su extracción y luego decayó. Un punto en contra del CDTA es que al igual que el EDTA su pierde tratamientos rápidamente debido a su fitotoxicidad.

Que el EDTA, el CDTA y el DTPA hayan tenido mejores desempeños fitoextrayendo metales se debe también a su baja biodegradabilidad, lo que los hace más duraderos en el medio de crecimiento según lo explicado por Komárek *et al.* (2006).

3.5. FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO

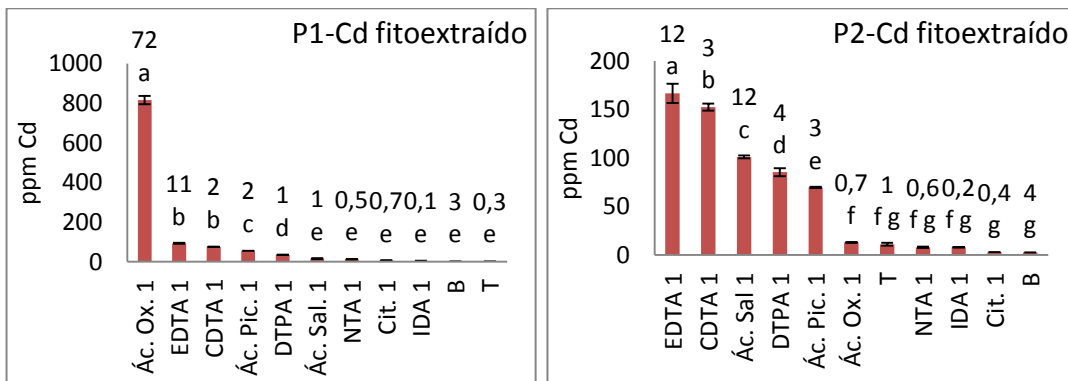
La cuarta sección expone el análisis de la fitoextracción de cadmio efectuada por *Festuca arundinacea* con los distintos tratamientos de ligantes, blanco y testigo. El análisis consta de dos partes, la primera por podas y la segunda por concentraciones de ligantes.

3.5.1. Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Cd

Para la adición de un milimol de ligantes/kg de suelo, se observa un comportamiento inesperado en la poda 1 con pocas diferencias significativas entre los tratamientos, y es que el tratamiento de ácido oxálico extrajo la máxima concentración de cadmio, por encima de tratamientos como el de EDTA o el de CDTA. En las podas posteriores el número de tratamientos significativamente diferentes aumentaron, ligantes como el EDTA, el CDTA, el DTPA y el ácido salicílico fueron los que mayores concentraciones de cadmio extrajeron aunque sin llegar a igualar al ácido oxálico en la poda 1.

Con respecto a la cantidad de cadmio total extraído, el tratamiento de ácido oxálico fue el que sólo en la poda 1 extrajo la mayor cantidad de metal, de ahí en adelante cayó su rendimiento. Tratamientos como el EDTA, el CDTA o el ácido salicílico extrajeron cantidades mayores que el testigo durante el experimento, pero en general los tratamientos de ligantes extrajeron sólo un poco más de µg de metal que el testigo, lo que significa que para este metal no fueron eficientes ayudando a la fitoextracción.

Un comportamiento muy distinto al del cobre o el plomo se presentó para el cadmio en el tratamiento blanco, el cual extrajo muy poca cantidad de metal total y concentración a lo largo del experimento.



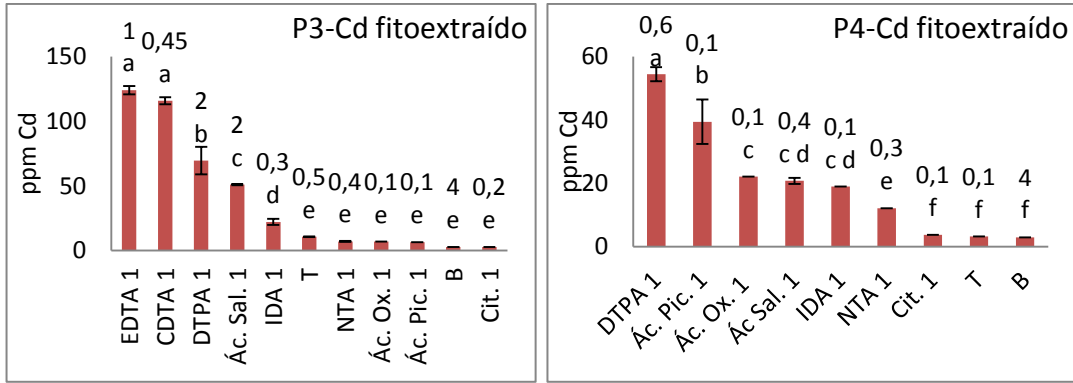
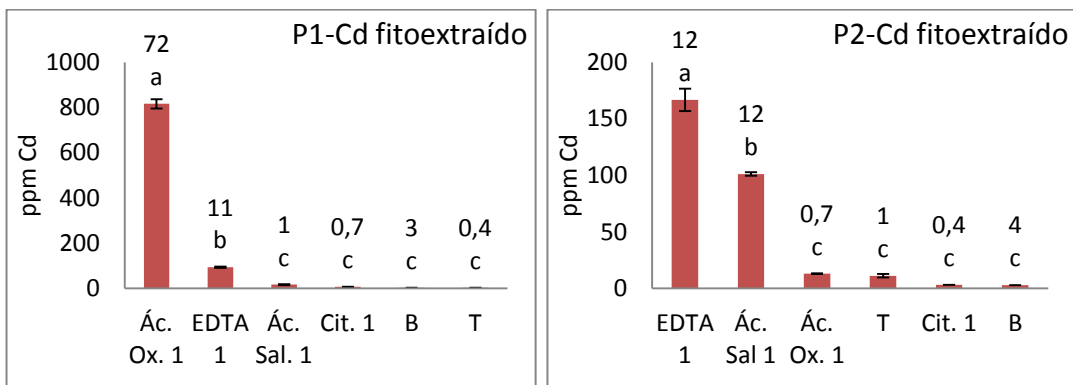


Figura 39. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N ‘, ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

Para los tratamientos de más de una réplica se realizó también el análisis con un milimol de ligantes/kg de suelo, siguiendo la tendencia mencionada en el caso anterior, con el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1 como el mejor extrayendo la concentración de cadmio, pero con poca duración de ese comportamiento. En las siguientes podas el EDTA y el ácido salicílico fueron los de mejor desempeño, con la desventaja que el EDTA perdió tratamientos para la cuarta poda.

Para la cantidad total de metal extraído, sólo el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1 fue exitoso, fuera de eso, en la poda 2 el EDTA y el ácido salicílico tuvieron rendimientos mejores al testigo aunque relativamente bajos. Para las demás podas los rendimientos de los tratamientos de ligantes con respecto a la cantidad de metal extraído estuvieron por debajo del testigo.



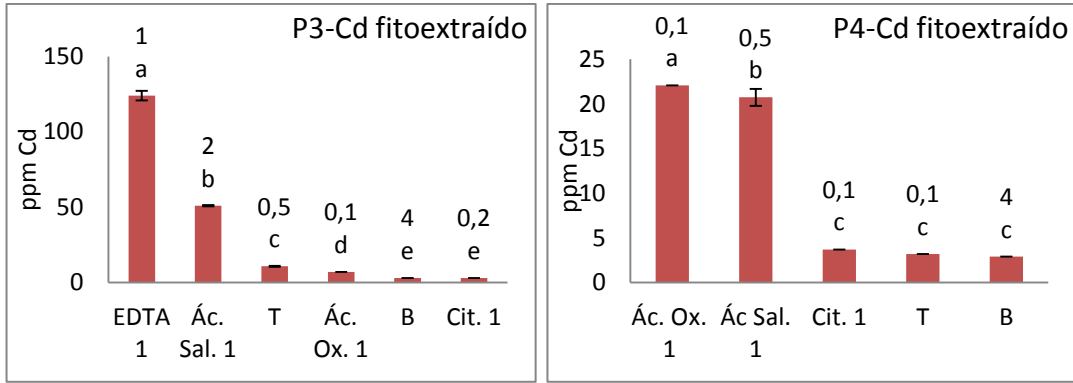
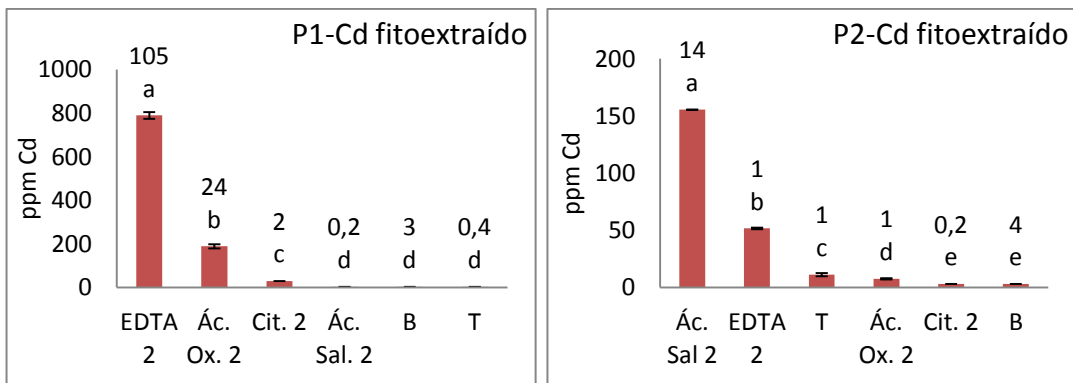


Figura 40. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

En la figura 41 se observa el comportamiento de los ligantes con dos milimoles de ligantes/kg de suelo, así como las diferencias significativas entre ellos, el tratamiento de EDTA fue el que mejor extrajo concentración de cadmio, pero sólo en la poda 1 porque para la poda 3 ya habían muerto sus tratamientos. En adelante y con un comportamiento que fue en picada apareció el ácido salicílico, que únicamente en la poda 3 fue rebasado por el citrato de sodio y el ácido oxálico.

La mayor cantidad de cadmio extraído la tuvo el tratamiento de EDTA solamente durante la poda 1 y posteriormente murieron sus tratamientos, en la misma poda 1 el ácido oxálico tuvo una cantidad mucho mayor de cadmio extraído que el testigo y los demás tratamientos con ligantes exceptuando al EDTA. En la poda 2 la máxima extracción de μg la presentó el ácido salicílico, pero para las podas 3 y 4 todos los ligantes disminuyeron la extracción de cadmio quedando muy similares los μg de metal con los del testigo, siendo el blanco el tratamiento con mayor cantidad de cadmio extraído.



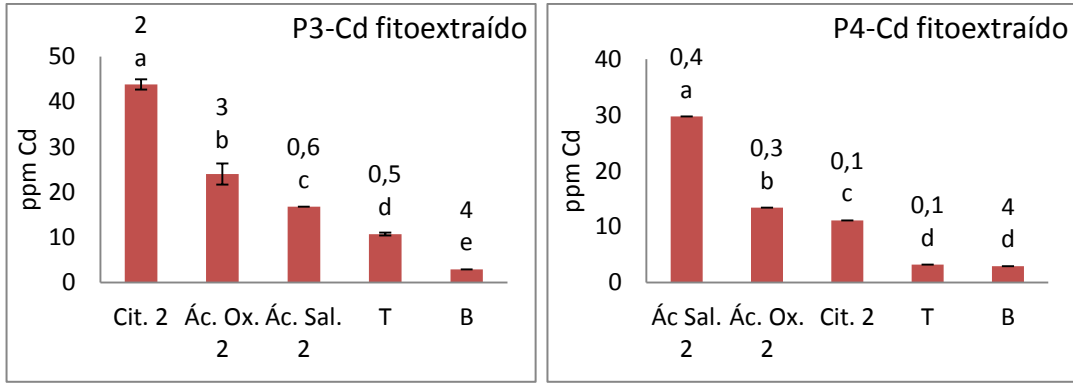
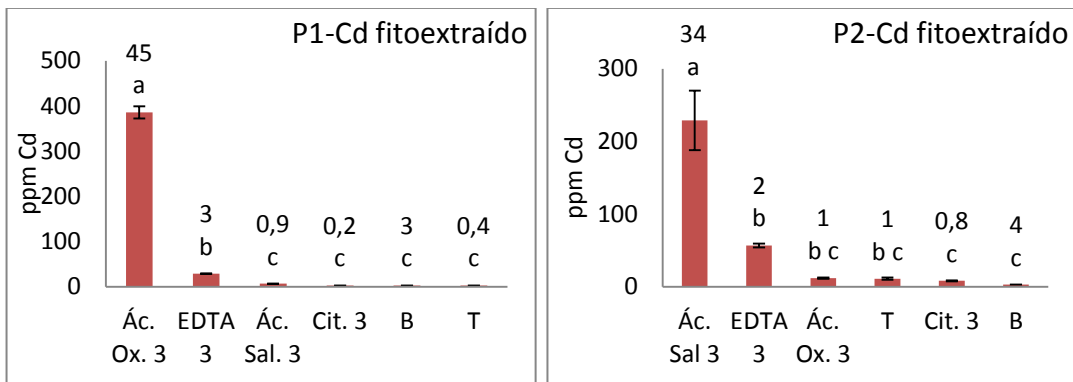


Figura 41. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 2 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de tres milimoles de ligantes/kg de suelo, se dio un comportamiento poco esperado para los tratamientos de ácido oxálico y de ácido salicílico en las primeras dos podas. En la poda 1 el ácido oxálico fue el tratamiento que mayor concentración de cadmio extrajo y en la poda 2 lo fue el ácido salicílico, ambos superando al EDTA. En las podas 1 y 2 los tratamientos tuvieron pocas diferencias significativas entre ellos, pero para las podas 3 y 4 éstas aumentaron, además en estas dos últimas podas los rendimientos de extracción fueron muy bajos.

Lo que respecta a las cantidades totales de metal fitoextraído, el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1 fue el más extractor y en la poda 2 lo fue el ácido salicílico, fuera de estas 2 excepciones ya no hubo diferencias notables en las cantidades de los demás tratamientos.



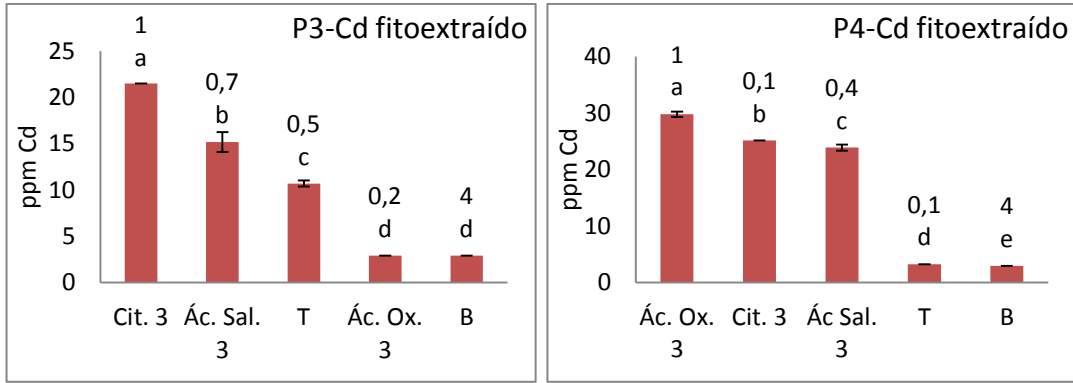
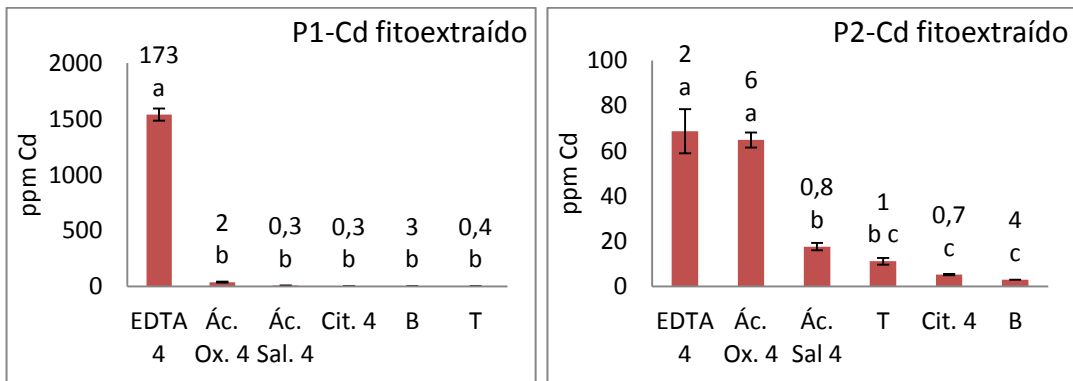


Figura 42. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 3 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de cuatro milimoles de ligantes/kg de suelo, el número de tratamientos significativamente diferentes disminuyó, el tratamiento de EDTA de nuevo apareció como el que mayor concentración de cadmio extrajo, pero solamente durante las podas 1 y 2, en las demás podas el tratamiento de ácido oxálico y de ácido salicílico fueron los que más concentración extrajeron en comparación con el testigo, aunque la diferencia de concentración entre estos no fue tanta.

El tratamiento de EDTA también fue el que mayor cantidad de cadmio extrajo en sólo dos podas, los otros tratamientos extrajeron más cadmio en todas las podas que el testigo, pero en cantidades mínimas que no causaron diferencias significativas entre tratamientos en realidad.



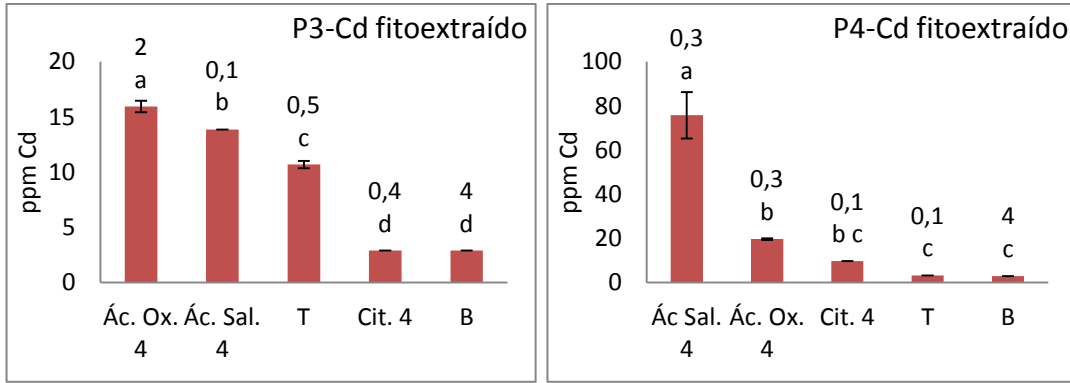
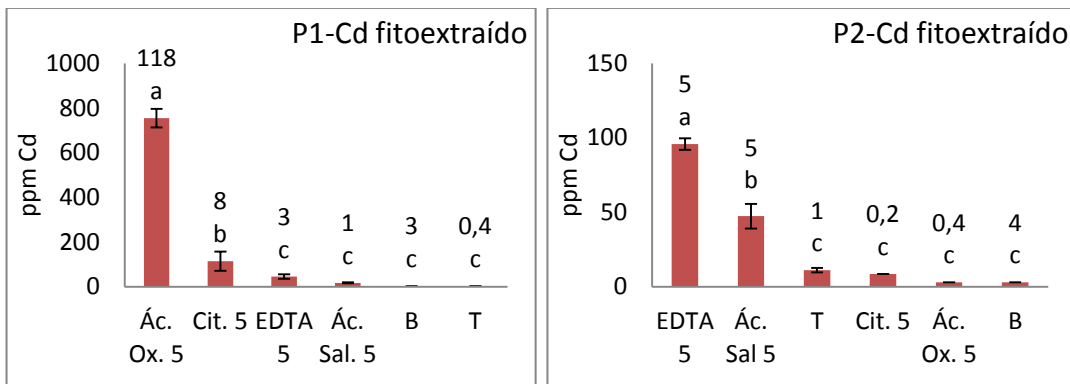


Figura 43. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 4 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de cinco milimoles de ligantes/kg de suelo, el número de tratamientos significativamente diferentes decreció en todas las podas, el tratamiento que mayor concentración de cadmio extrajo fue el del ácido oxálico en la poda 1, en adelante su desempeño disminuyó. El tratamiento de EDTA, el de citrato de sodio y el de ácido salicílico fueron los tratamientos que se trataron de posicionar como los que mayor concentración de cadmio extrajeron a lo largo de las podas, pero ningún ligante fue constante en la extracción de cadmio.

Sólo en la poda 1 el tratamiento de ácido oxálico extrajo una cantidad muy alta de µg de cadmio, en las podas posteriores los tratamientos con ligantes no extrajeron cantidades de metal muy distintas al testigo, algunas excepciones se dieron en la poda 2 y 3 con el ácido salicílico y oxálico que extrajeron cantidades similares a las del blanco.



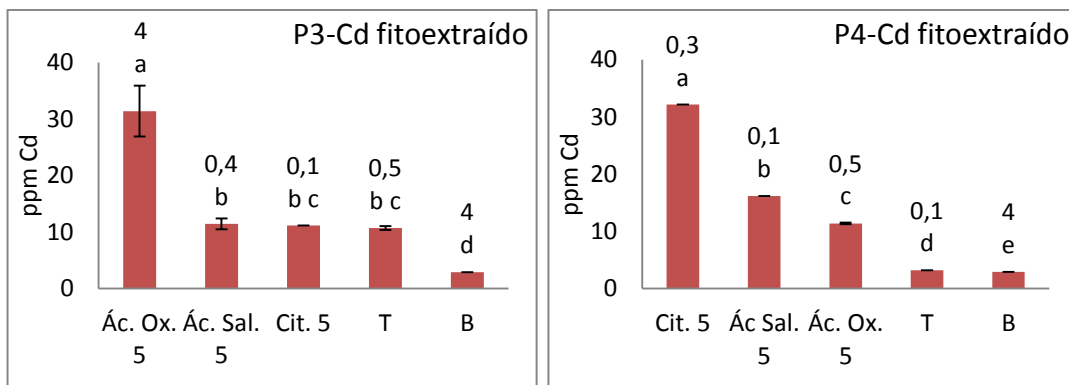


Figura 44. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 5 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cadmio totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

DISCUSIÓN

Para el cadmio varios tratamientos de ligantes tuvieron protagonismo en la fitoextracción, por ejemplo el ácido oxálico y el salicílico, el EDTA, el CDTA y el DTPA, todos sus tratamientos mostraron a bajas y medianas concentraciones diferencias significativas contra los demás tratamientos incluido el testigo. Una antecedente que apoya el éxito del ácido oxálico y del salicílico lo expone Wang *et al.* (2017) que mencionan que los ácidos orgánicos de bajo peso molecular son muy importantes como ligantes de cadmio para lograr una translocación exitosa hacia la parte aérea de *Festuca arundinacea* a través de la savia del xilema, e incluso asocia a esta clase de ligantes con una alta tasa de translocación.

Los tratamientos de CDTA y el DTPA fueron los que se comportaron más estables durante todas las podas y concentraciones, se recalca que no fueron los mejores pero sí los más constantes. El tratamiento de EDTA, el de ácido oxálico y el de ácido salicílico oscilaron mucho en sus valores de extracción de la concentración de cadmio y no tuvieron una tendencia clara a seguir, mostraron altibajos muy marcados durante el experimento en cuanto a su extracción de concentración y cantidad de cadmio.

Tratamientos de ligantes como el NTA, el citrato de sodio o el ácido picolínico no mostraron buenos rendimientos de extracción para el cadmio, ni han mostrado para los metales antes analizados un comportamiento de fitoextracción alto, cabe mencionar que en algunos casos estos tratamientos sí superan en extracción a algunos de los otros tratamientos de ligantes, el testigo o el blanco, pero sus rendimientos no son lo suficientemente efectivos en comparación con los tratamientos que más fitoextraen cadmio. Respecto a lo antes descrito Meers *et al.* (2004) en su experimento con maíz concluyen que siempre ligantes del tipo EDTA son mejores en general para la

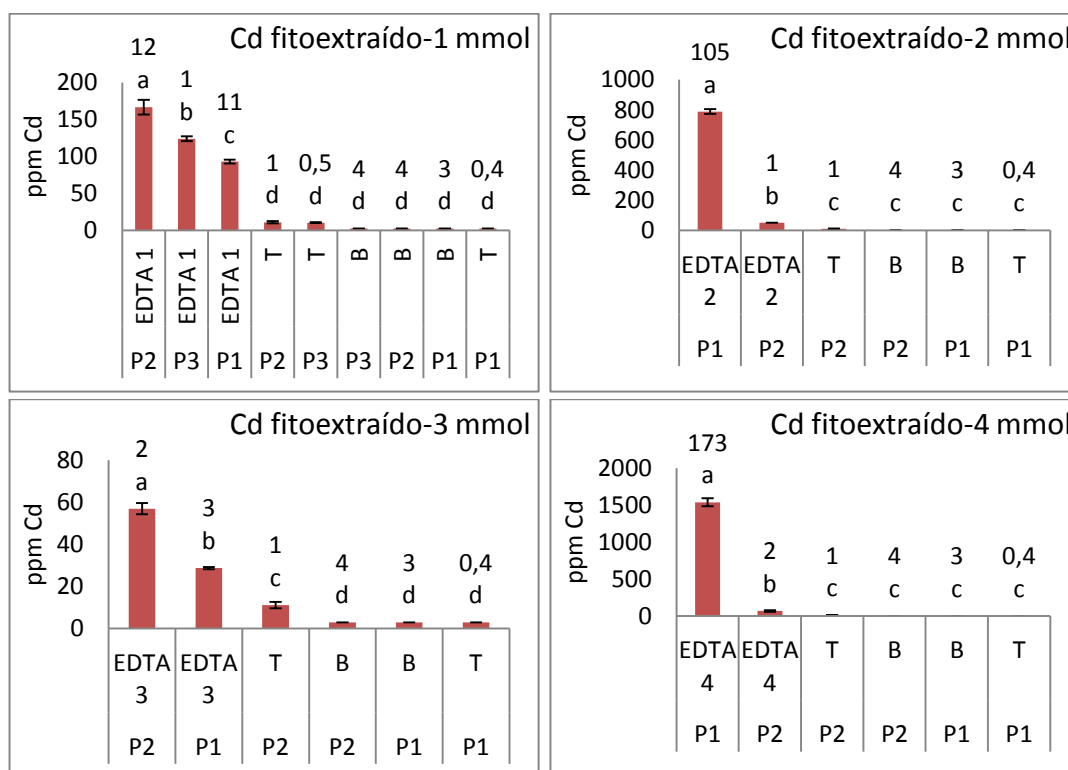
fitoextracción que ligantes como el NTA, el ácido ascórbico, el ácido cítrico, el ácido salicílico y el acetato de sodio.

Cuando el Zn y el Cd se encuentran en el mismo medio de crecimiento el cadmio desplaza al zinc como nutriente al ser químicamente muy similar, y en las angiospermas el cadmio se acopla a los transportadores de zinc entrando así a la planta, según los mecanismos de absorción descritos por Clabeaux *et al.* (2013).

3.5.2. Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Cd

Para el caso particular del tratamiento de EDTA con 4 milimoles de ligante/kg de suelo, se dio la mejor extracción en la concentración de cadmio, los tratamientos de EDTA siempre fueron significativamente diferentes al testigo y al blanco salvo con tres y cinco milimoles, una ventaja que tiene la concentración de un milimol es que sus tratamientos viven más tiempo, lo que a concentraciones altas no sucedió.

La cantidad de cadmio total extraída por el tratamiento de EDTA fue bastante alta con dos y cuatro milimoles de ligante/kg de suelo, las demás concentraciones tuvieron un rendimiento alto en comparación con el testigo, pero bajo en comparación con las concentraciones antes mencionadas.



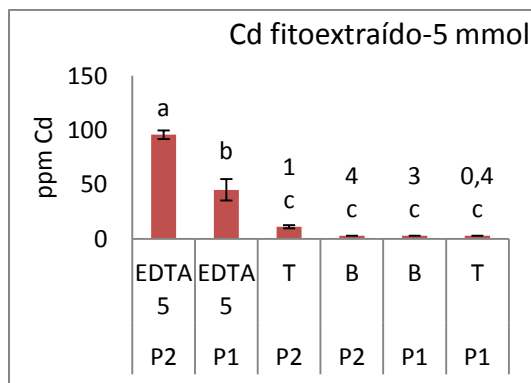
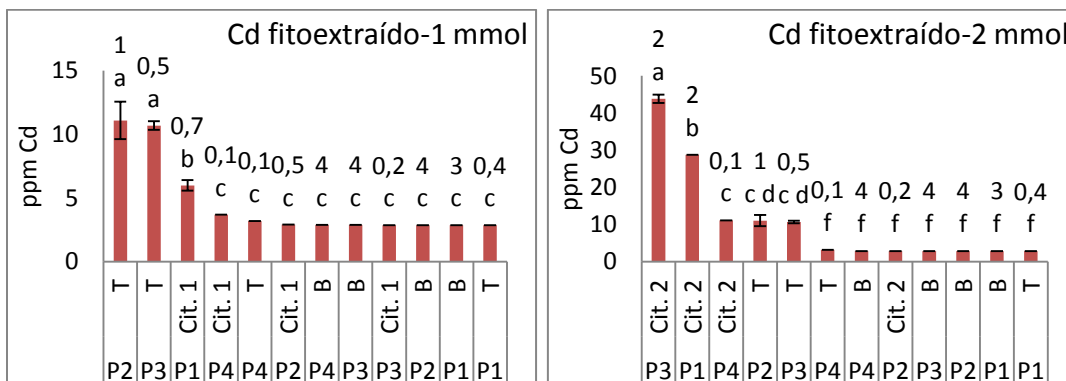


Figura 45. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio EDTA”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cadmio en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido etilendiamotetraacético.

Los tratamientos de citrato de sodio sólo con uno, tres y cinco milimoles de ligante/kg de suelo lograron extraer mayor concentración de cadmio que el testigo, y aun así las concentraciones de cadmio que alcanzó en esos casos no fueron tan altas. Con un milimol hubo pocas diferencias significativas entre tratamientos y al aumentar la concentración de ligante las diferencias entre tratamientos aumentaron también.

Con respecto a la cantidad total de metal, en general el citrato de sodio no marcó diferencia contra el testigo ni el blanco, únicamente en la primera poda con cinco milimoles extrajo cadmio en altas cantidades pero sin llegar a ser tan superior a los otros tratamientos.



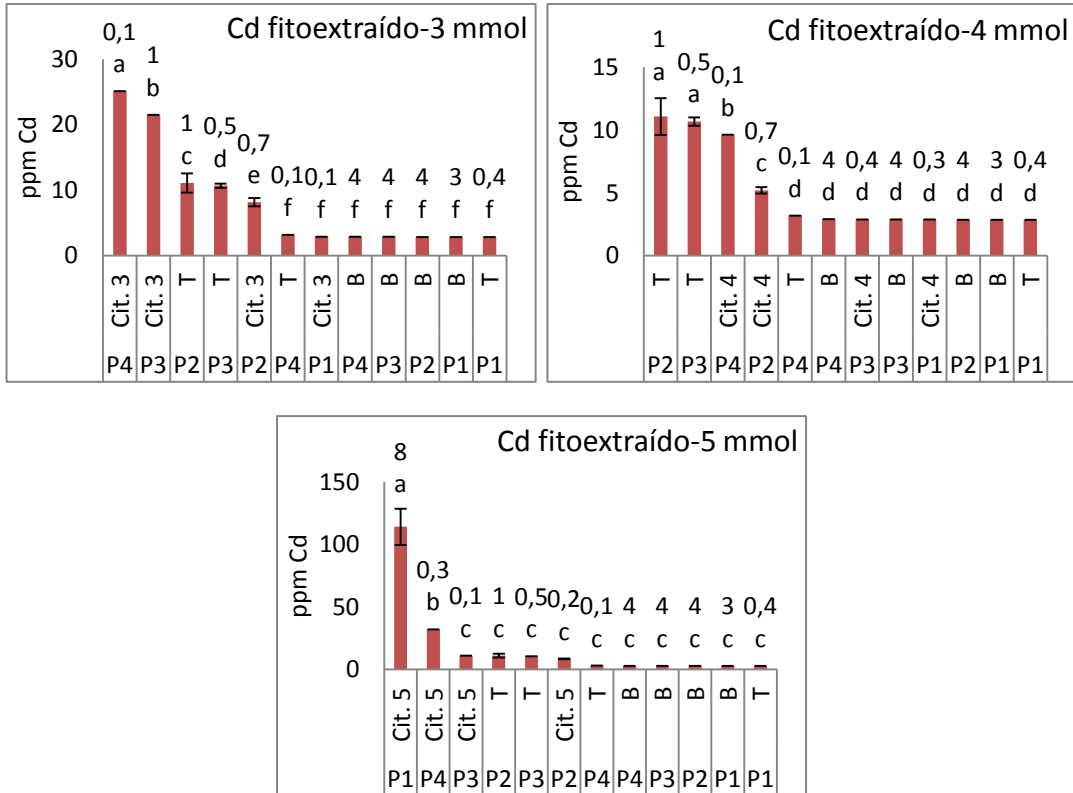


Figura 46. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Citrato de sodio”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Citrato de sodio.

Los tratamientos de ácido oxálico sí mostraron una tendencia muy marcada como se observa en la figura 47, y es que siempre en la primera poda de todas sus concentraciones extrajeron mayor concentración de cadmio que todos los demás tratamientos, los tratamientos de este ligante fueron significativamente diferentes y superiores a los demás a través de las podas.

La situación anterior se repite para la cantidad total de µg de cadmio, siendo el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1, en todas sus concentraciones el tratamiento que más metal extrajo.

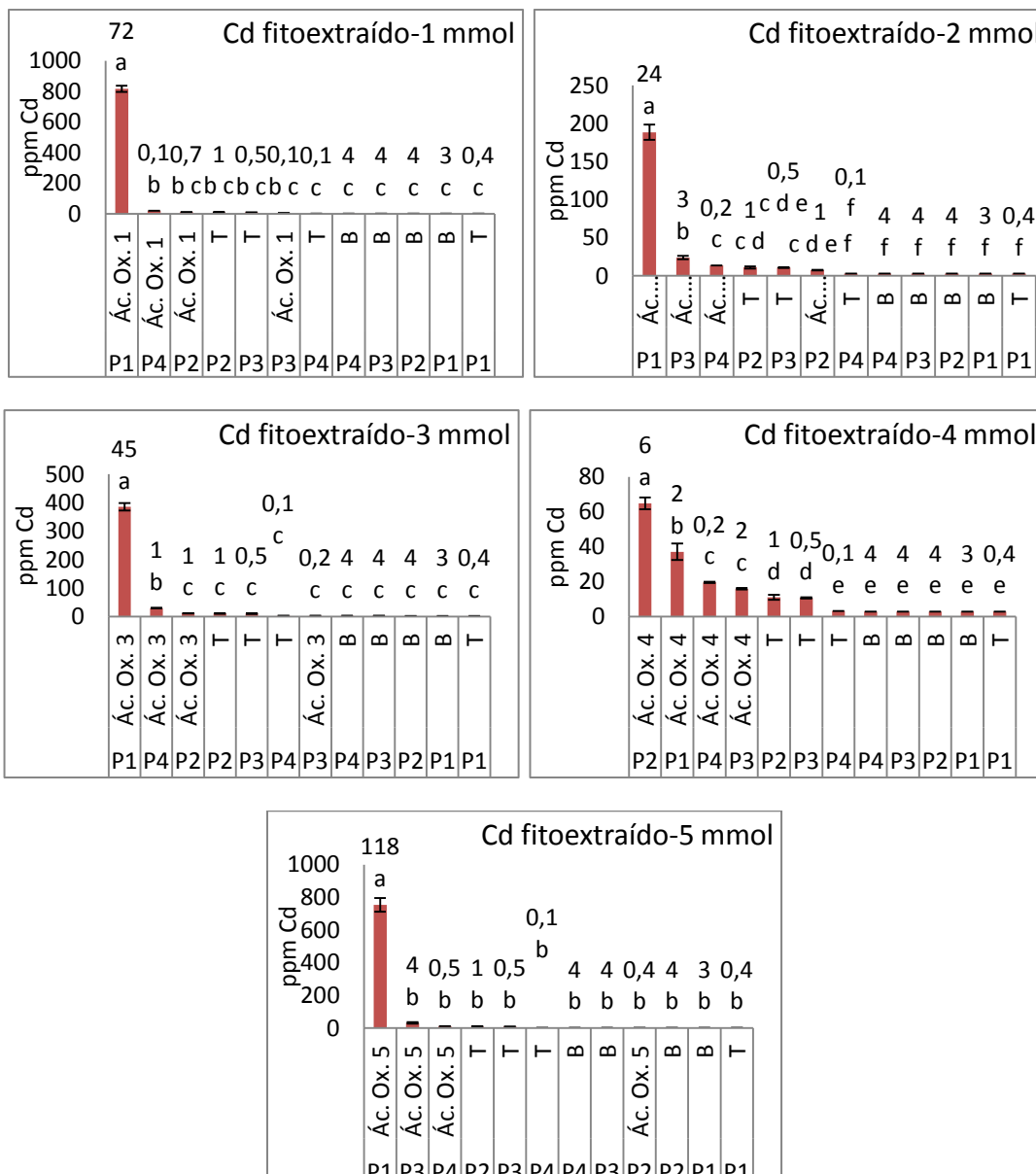


Figura 47. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido oxálico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido oxálico.

Los tratamientos de ácido salicílico se comportaron de forma similar a los del ácido oxálico, en ambos casos los tratamientos fueron significativamente diferentes a los del testigo y el blanco. Se observa para ambos una tendencia de “asimilación” del ligante, ya

que crecieron hasta un punto máximo (de máxima concentración y cantidad extraída) y cayeron después.

La tendencia que siguieron los tratamientos de ácido salicílico para la extracción de la concentración de cadmio es la misma que la extracción de la cantidad de metal total.

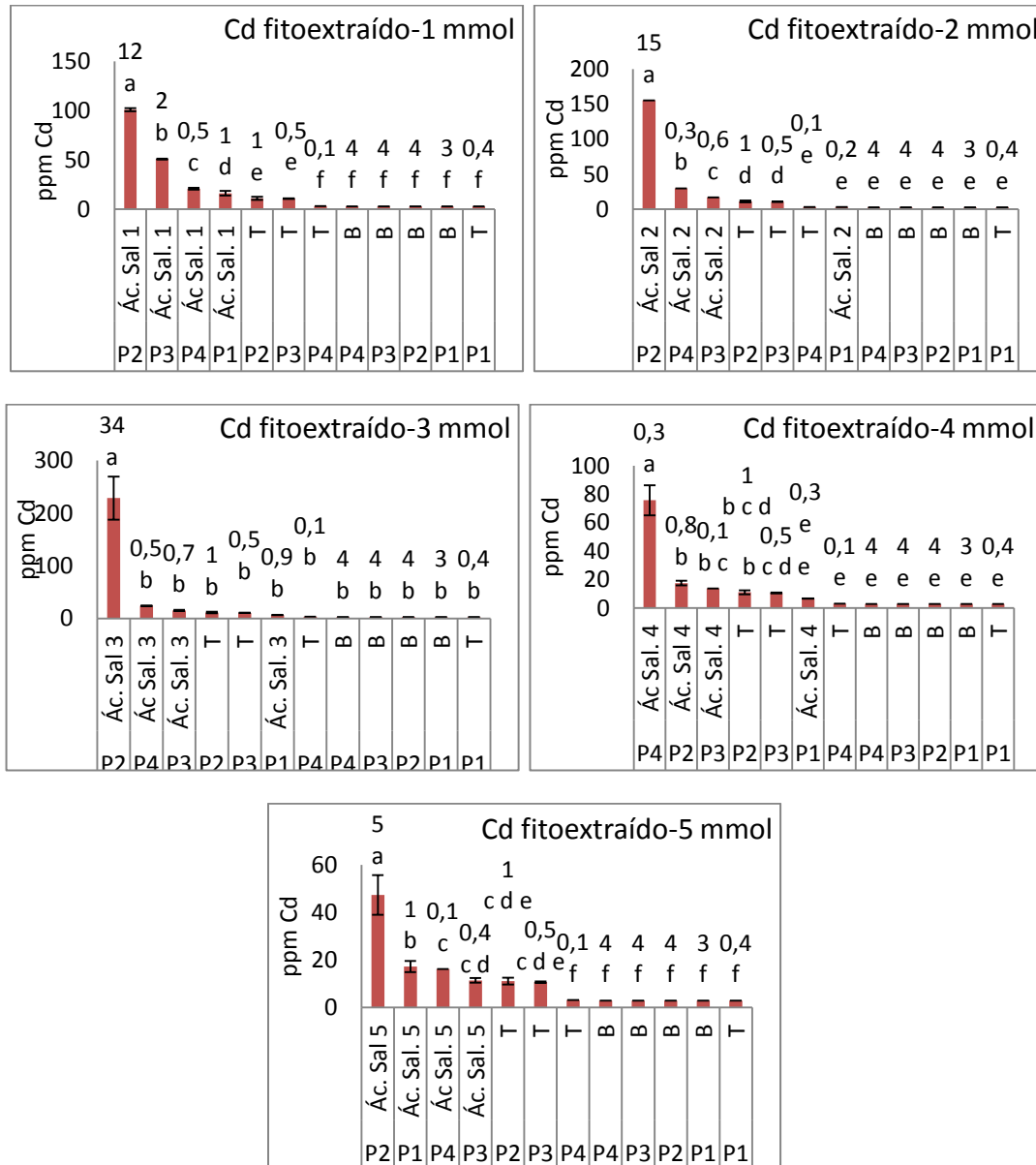


Figura 48. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido salicílico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de cadmio en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido salicílico.

En el caso de los tratamientos de ligante de una sola réplica todos mostraron mejor extracción en la concentración de cadmio que el testigo, pero el CDTA y el DTPA extrajeron concentraciones mucho mayores a los otros tratamientos de ligantes, el testigo y el blanco, en general la mejor extracción en la concentración de cadmio tuvo lugar en la segunda poda.

La cantidad total de metal extraído no fue exitosa con ninguno de estos tratamientos de ligantes, lo cual se relaciona con la poca biomasa producida por los tratamientos, ya que extrajeron prácticamente igual cantidad de cadmio que el testigo y menor cantidad que el blanco, sin importar la poda.

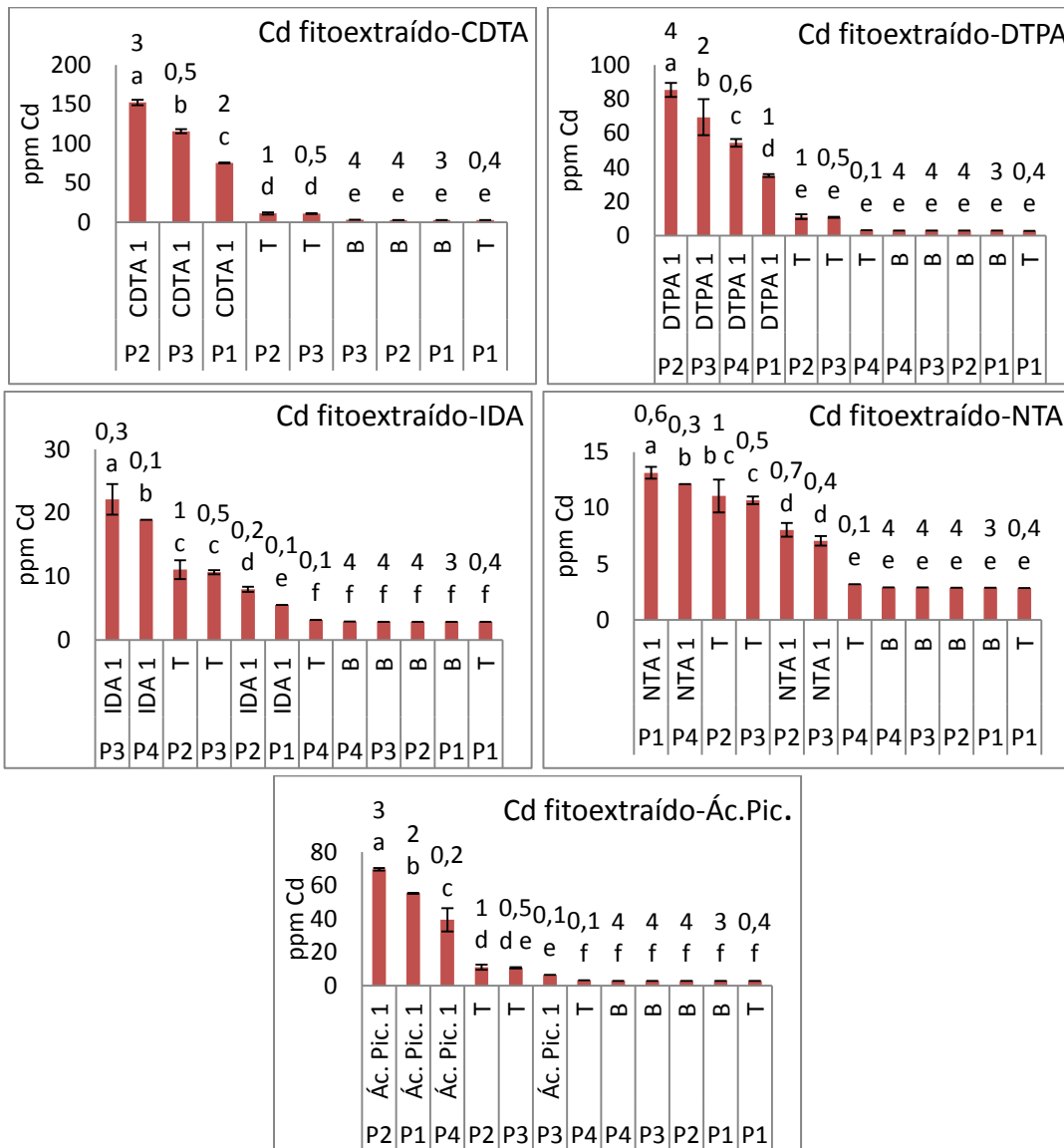


Figura 49. “Concentración de cadmio fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio CDTA, DTPA, IDA, NTA y Ácido Picolínico 1 milimol de ligantes/kg de suelo”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de cadmio en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, *t*-1,2-Diaminociclohexano-*N*, *N*, *N'*, ácido *N'*-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

DISCUSIÓN

Como se explicó antes, el comportamiento de extracción para cadmio no fue similar al de los metales antes analizados y es que las concentraciones extraídas de este metal se vieron más marcadas hacia ciertos ligantes y concentraciones, aunado a lo anterior el número de tratamientos significativamente diferentes también se redujo. Para el tratamiento de EDTA por ejemplo las únicas concentraciones favorables fueron dos y cuatro milimoles de ligante/kg de suelo, teniendo como inconveniente de perder tratamientos rápidamente.

El tratamiento de citrato de sodio únicamente con cinco milimoles fue ligeramente efectivo, en realidad como ligante promotor para la fitoextracción de cadmio no fue exitoso en el experimento. El ácido oxálico y salicílico tuvieron un comportamiento poco constante, ya que ambos tuvieron un mal rendimiento en general, pero en una poda alcanzaron concentraciones y cantidades de cadmio extraído muy altas; el ácido oxálico siempre en la poda 1 de todas sus concentraciones y el salicílico la mayoría de las veces en la poda 2. Wang *et al.* (2017) se inclina por el uso de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular en la fitoextracción porque tienen efectos negativos mínimos en las plantas, y en altas concentraciones pueden promover en gran medida la fitoextracción de metales pesados, sin embargo Evangelou *et al.* (2007) cita a Gramss *et al.* (2004) quien realizó un experimento con *Chinese cabbage* y mostró que a 83 milimoles de citrato de sodio/kg de suelo, éste causaba efectos muy tóxicos a la planta.

El tratamiento de CDTA y de DTPA decrecieron su extracción de la concentración y cantidad de cadmio comparado con el cobre y plomo, aunque de manera muy poco abrupta; caso contrario ocurrió con los otros tratamientos de ligantes de una sola réplica, los cuales sí mostraron caídas muy notorias en cuanto a los rendimientos mostrados para cobre y plomo.

3.6. FITOEXTRACCIÓN DE ZINC

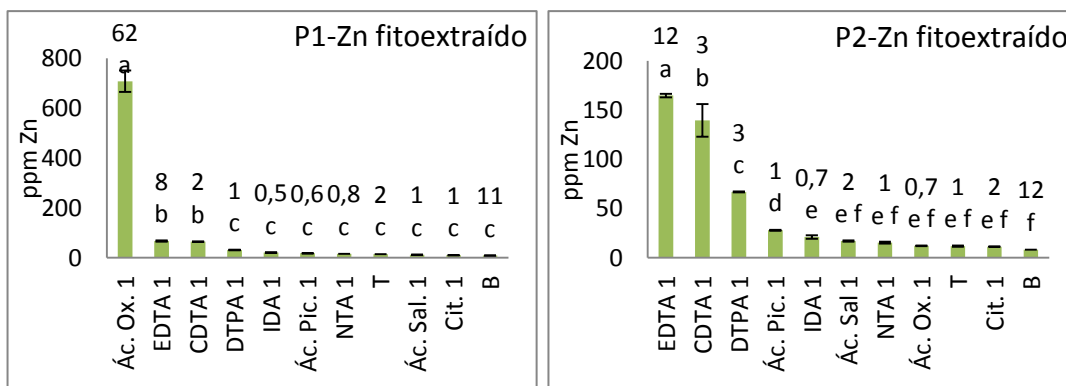
En esta última sección expone el análisis de la fitoextracción de zinc efectuada por *Festuca arundinacea* con los distintos tratamientos de ligantes, el blanco y el testigo. El análisis consta de dos partes, la primera por podas y la segunda por concentraciones de ligantes.

3.6.1. Comparación de los tratamientos entre podas. Efecto de la concentración de ligantes en el tiempo sobre la fitoextracción de Zn

Para el zinc fitoextraído hay pocos tratamientos significativamente diferentes en las podas 1 y 4, pero en las podas 2 y 3 el número de los mismos va en incremento y se dieron más diferencias entre tratamientos, lo que se aúna al inicio de la acción de los ligantes. En la poda 1 el tratamiento de ácido oxálico fue el más exitoso extrayendo la mayor concentración de zinc, en adelante durante la poda 2 y 3 el CDTA y el EDTA lideraron la extracción, sin embargo en la poda 4 se dio un fenómeno poco esperado y es que el DTPA extrajo una cantidad muy superior a todas las extracciones anteriores con aproximadamente 4000 ppm de zinc. Los demás tratamientos con ligantes a excepción del citrato de sodio extrajeron mayor concentración de zinc que el testigo, e incluso fueron significativamente distintos pero sin llegar a marcar gran diferencia.

Con respecto a las cantidades totales de zinc extraído el tratamiento de ácido oxálico, el de EDTA y el de DTPA extrajeron la mayor cantidad de μg de zinc en las podas 1, 2 y 4 respectivamente para cada ligante.

En el caso de la extracción de zinc, el tratamiento blanco extrajo cantidades relativamente altas de metal en comparación con los demás tratamientos.



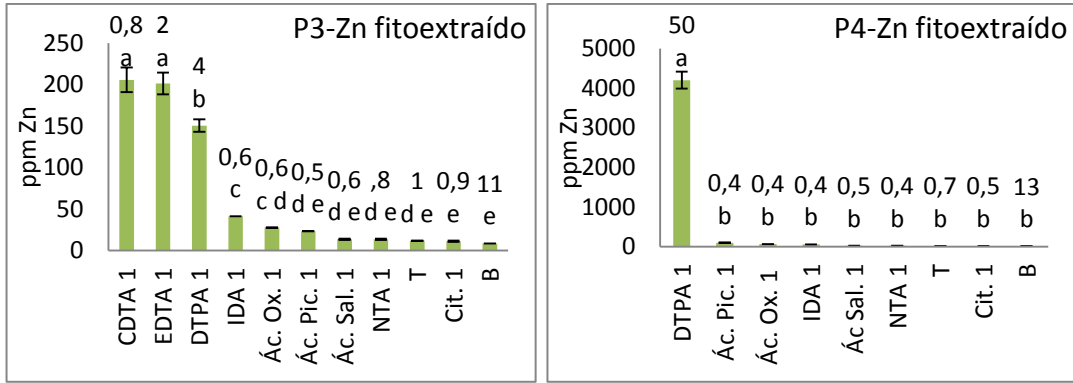
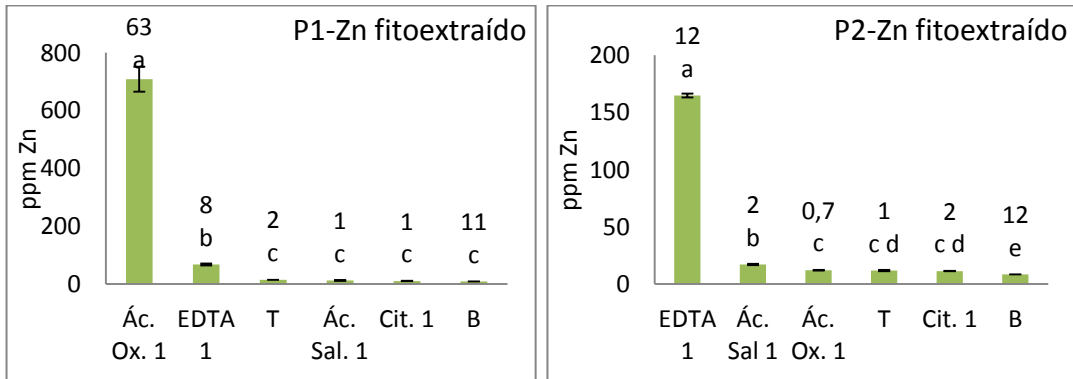


Figura 50. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

Para los tratamientos con más de una réplica y un milimol de ligante/kg de suelo, los de mejor desempeño fueron el ácido oxálico y el EDTA, ambos extrajeron la mayor concentración de zinc, aunque por mucho el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1 y 4 fue el que más extrajo. El tratamiento de EDTA tuvo una extracción alta en la poda 2 y 3. Estos tratamientos mostraron pocas diferencias significativas sin importar la poda.

La máxima cantidad de metal total extraído la tuvo el tratamiento de ácido oxálico en la poda 1, posteriormente el tratamiento de EDTA en la poda 2 extrajo una mucho menor cantidad de µg de zinc en comparación con el caso antes mencionado. En las siguientes podas, ninguno de los tratamientos de ligante extrajo cantidades altas de metal, y se mantuvieron muy cercanos al testigo y por debajo del blanco.



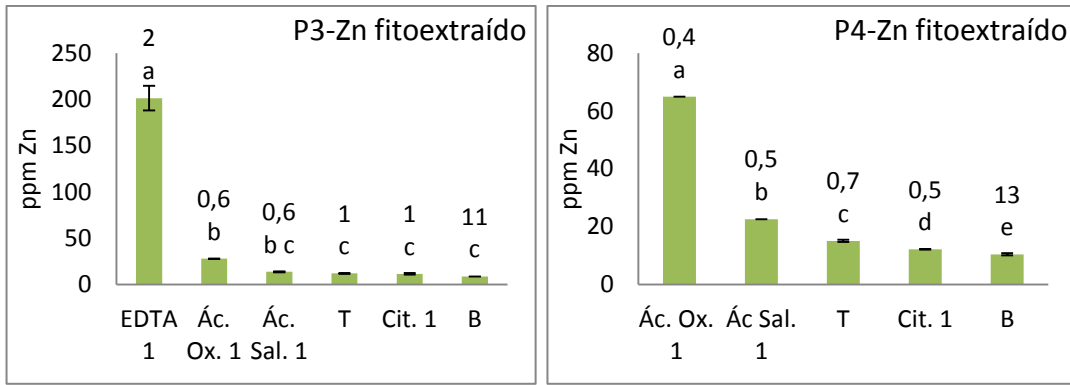
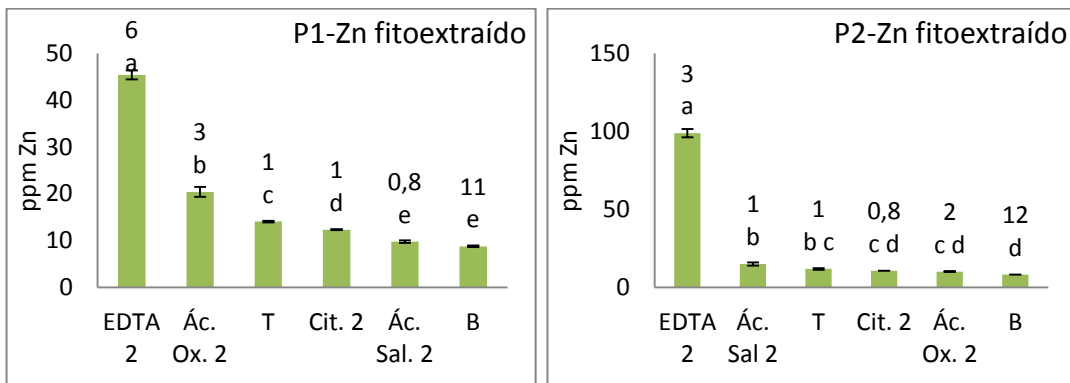


Figura 51. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 1 milimol de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de dos milimoles de ligante/kg de suelo, el tratamiento de EDTA fue el que mayor concentración de zinc extrajo, pero en realidad sin tener un rendimiento tan alto en comparación con los otros ligantes ni con las otras concentraciones de ligante. En las primeras dos podas el tratamiento de citrato de sodio y el de ácido salicílico estuvieron por debajo del testigo y casi en igualdad con el blanco. A pesar de los bajos rendimientos de extracción los tratamientos sí son significativamente diferentes entre ellos, lo que implica que cada tratamiento se ve afectado de manera distinta por cada ligante en el proceso de fitoextracción a pesar del bajo rendimiento general.

Las cantidades de metal igualmente se vieron mermadas, sin importar de que ligante se tratase, el tratamiento de EDTA sí extrajo la mayor cantidad de µg de zinc, pero no fue tanto como en los casos de los metales descritos en secciones anteriores. El blanco en este caso está extrayendo más metal que cualquiera de los tratamientos testigo o con ligantes debido a su gran cantidad de biomasa producida.



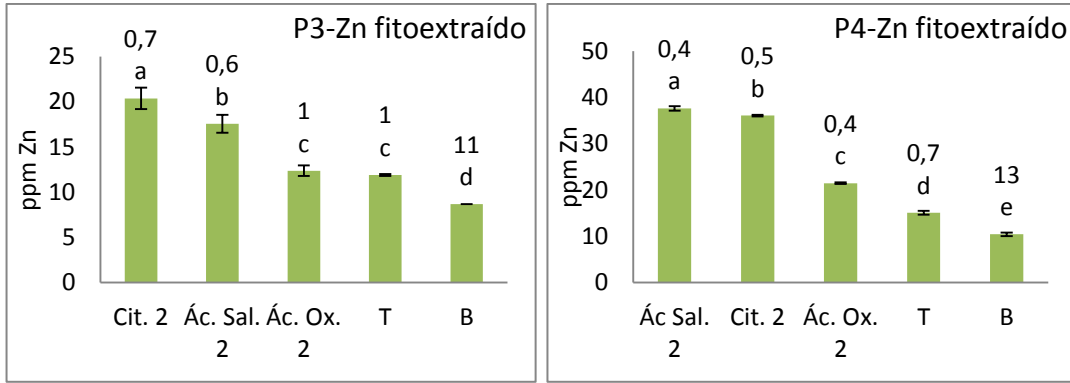
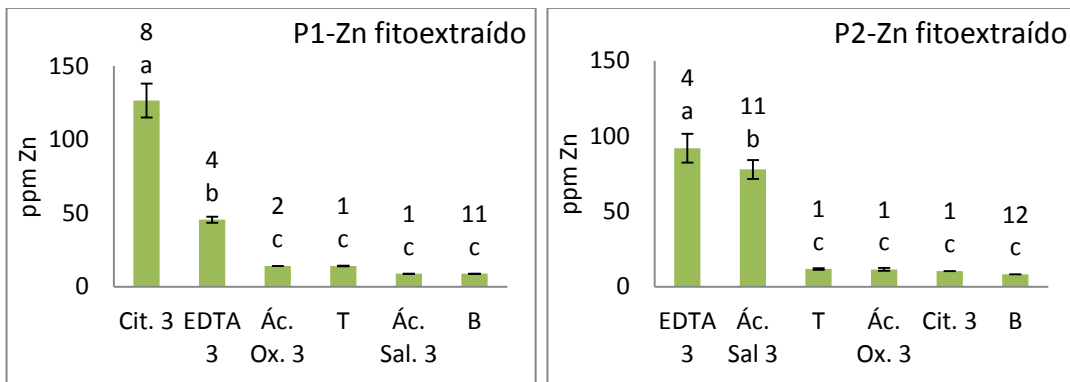


Figura 52. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 2 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

El comportamiento de la figura 52 se repite para la figura 53, con la adición de tres milimoles de ligante/kg de suelo, los tratamientos de citrato de sodio, de EDTA y de ácido salicílico fueron los que encabezaron la mayor extracción de la concentración de zinc; entre estos tres ligantes se disputaron los primeros sitios en la fitoextracción a lo largo de las podas. El rendimiento en la extracción con tres milimoles de ligante fue relativamente baja como en los casos anteriores y las diferencias significativas entre tratamientos también se redujeron.

Los tratamientos de EDTA y de citrato de sodio en la poda 1, así como el EDTA y ácido salicílico en la poda 2 fueron los tratamientos que mayor cantidad de metal total extrajeron, a parte de ellos ningún tratamiento tuvo rendimientos de extracción elevados y/o distintos a los del testigo.



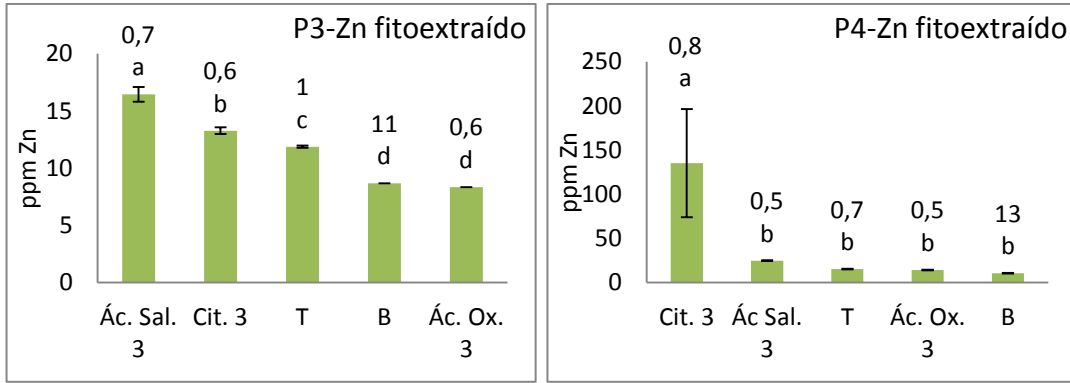
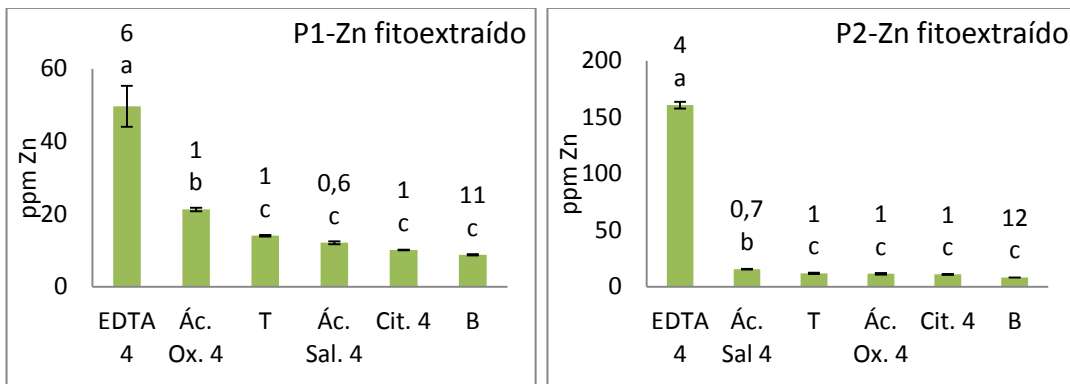


Figura 53. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 3 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

Con la adición de cuatro milimoles de ligante/kg de suelo, el tratamiento de EDTA en las primeras dos podas fue el que mayor concentración de zinc extrajo, los otros dos tratamientos que extrajeron concentraciones relativamente altas de zinc fueron el ácido oxálico y el salicílico en similar proporción que el EDTA, pero con la ventaja de que sus tratamientos duraron todo el experimento y no como el caso del EDTA que para la poda 3 ya no tenía tratamientos.

El EDTA también fue el tratamiento que más µg de metal extrajo, el tratamiento de ácido oxálico extrajo la mayor cantidad de zinc únicamente en la poda 3, cabe mencionar que ninguno de estos dos tratamientos a pesar de haber extraído la máxima cantidad de metal causaron gran diferencia contra los otros tratamientos e incluso resultaron por debajo del blanco.



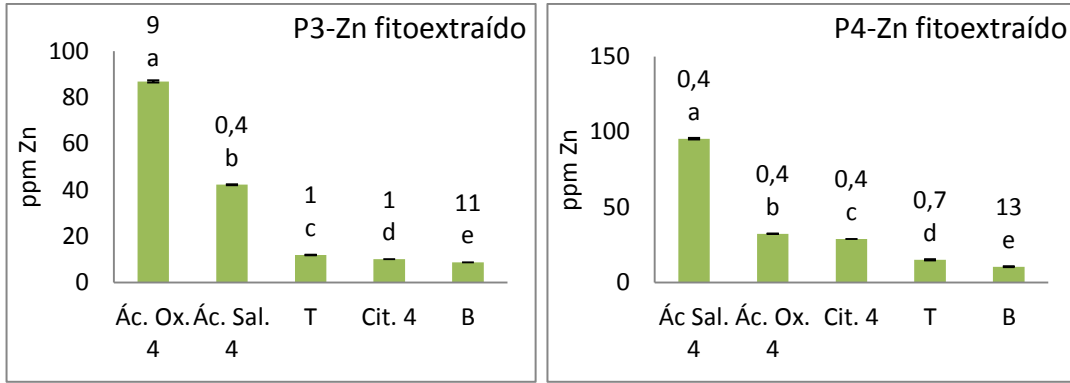
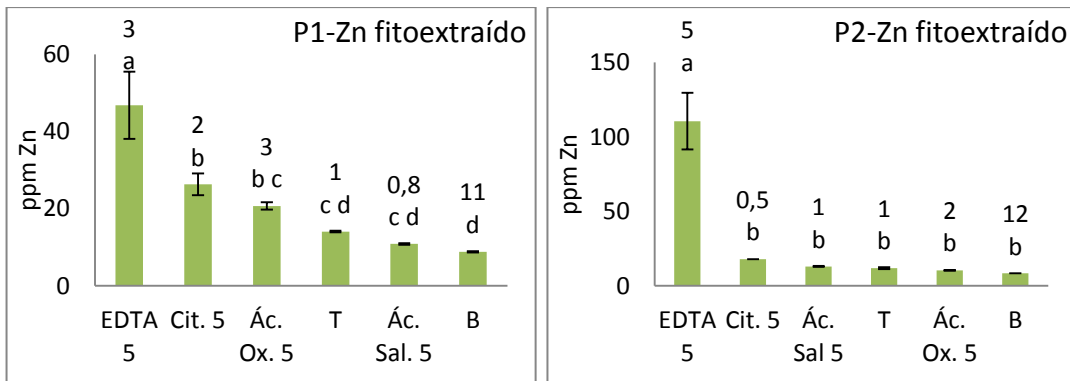


Figura 54. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 4 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

La tendencia que ha presentado el zinc con la mayoría de las concentraciones de ligantes se repite una vez más con la adición de cinco milimoles de ligantes/ kg de suelo, en general hay muy bajo rendimiento en la extracción de la concentración de zinc (abajo de 100 ppm). El tratamiento de EDTA, el de citrato de sodio y el de ácido salicílico fueron los tratamientos de mejor desempeño extrayendo concentración de zinc por encima del testigo.

Las cantidades de metal totales extraídas de todos los tratamientos a excepción del blanco no fueron diferentes al testigo, prácticamente fueron las mismas pero con mínimas diferencias a través del tiempo. El tratamiento blanco fue el único que extrajo mayor cantidad de zinc en comparación con los tratamientos de ligante.



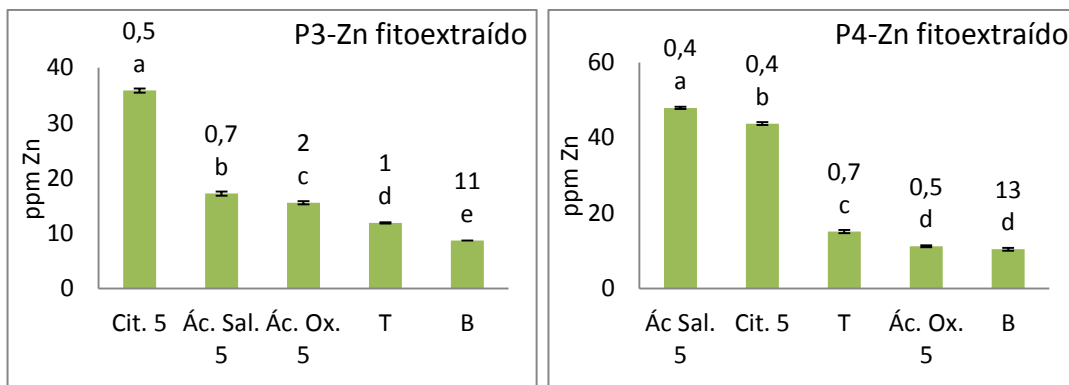


Figura 55. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio”. Las gráficas corresponden a 5 milimoles de ligantes/kg de suelo, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias significativas entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en μg de zinc totales en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, Citrato de sodio, Ácido salicílico, Ácido oxálico, Ácido etilendiamotetraacético.

DISCUSIÓN

De manera general para el zinc ninguno de los ligantes adicionados funcionó tan efectivamente como para los otros metales analizados en el experimento, tratamientos como el EDTA, el de ácido oxálico o el de ácido salicílico que con el cobre, el plomo o el cadmio fueron exitosos en la fitoextracción, con el zinc no surtieron un efecto tan favorable. Cabe mencionar que sí hubo zinc extraído pero en concentraciones y cantidades bajas, algunos de los tratamientos fueron significativamente diferentes entre sí (aunque sólo los de mejores rendimientos, que en general no fueron rendimientos altos).

Los tratamientos de ligantes probados a excepción del EDTA se consideran no efectivos en la extracción de zinc, lo antes explicado se podría basar en lo descrito por Clabeaux *et al.* (2013) acerca del desplazamiento del zinc a causa del cadmio (ver sección Cadmio).

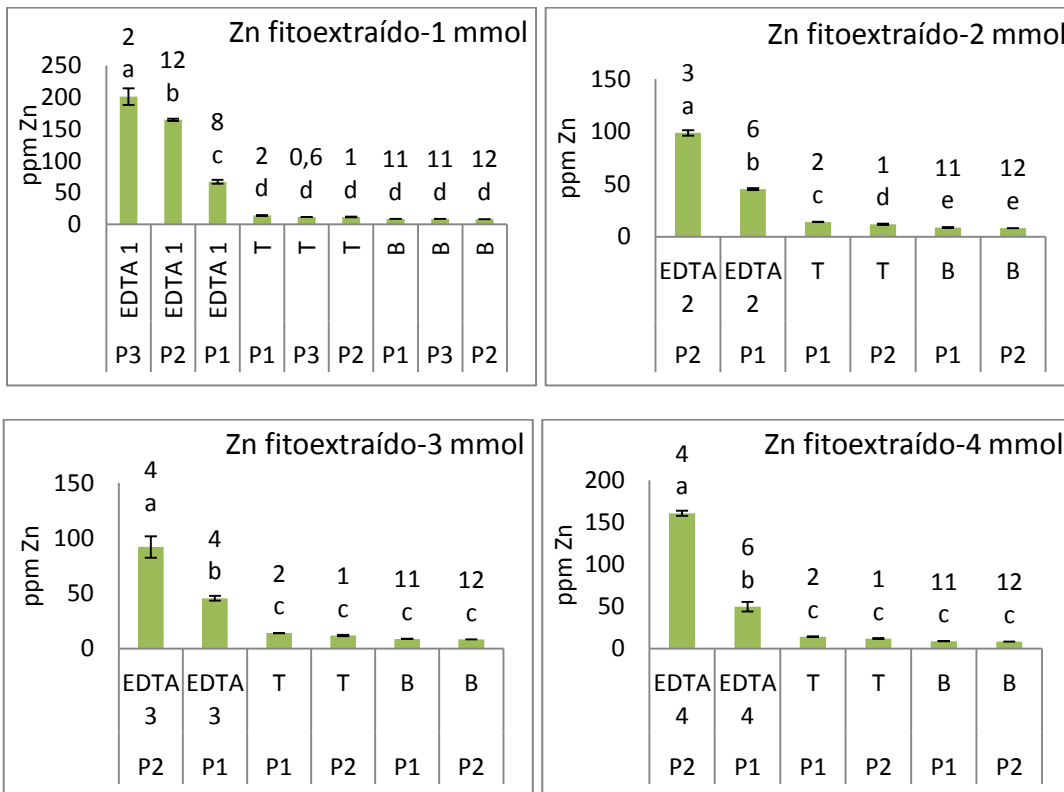
Los tratamientos de citrato de sodio para el zinc mostraron por momentos buena extracción en comparación con los otros metales, pero a pesar de haber mostrado repentinamente un mejor rendimiento que el EDTA, el testigo o que los ácidos oxálico y salicílico, en general no fue efectivo fitoextrayendo zinc.

Un tratamiento que fue exitoso pero sólo a primera vista fue el CDTA, que tuvo altas concentraciones y cantidades de zinc fitoextraído, esto para sólo haber contado con una réplica, su éxito se sustenta en sus altas constantes de formación en comparación con otros ligantes como se ha estado mencionando y no se asegura que a lo largo del tiempo pudiese continuar extrayendo de manera efectiva tanto concentración como cantidad de zinc o inclusive que sus tratamientos no murieran al paso de la tercera o la cuarta poda.

3.6.2. Comparación de los tratamientos entre concentraciones. Efecto del tipo de ligante en el tiempo sobre la fitoextracción de Zn

Los tratamientos de EDTA siempre extrajeron mayor concentración de zinc que el tratamiento blanco y el testigo, además de que fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos. Las concentraciones de ligante que resultaron en una mayor concentración extraída de zinc fueron la de uno y cuatro milimol de ligante/kg de suelo, aunque en realidad no hubo gran diferencia con las otras concentraciones de ligante. La concentración extraída de zinc a todas las concentraciones de ligante siempre se elevó durante el avance del tiempo, pero paulatinamente se fueron perdiendo tratamientos.

Con respecto a la cantidad total de metal extraído, con ninguna concentración los tratamientos de EDTA lograron extraer zinc en proporciones altas respecto al testigo. Con un milimol de ligante se dio la mejor extracción de μg de zinc, aunque sin ser realmente alta como con el cobre, el plomo o el cadmio.



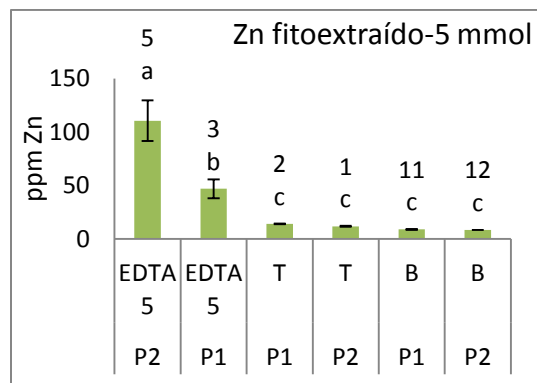
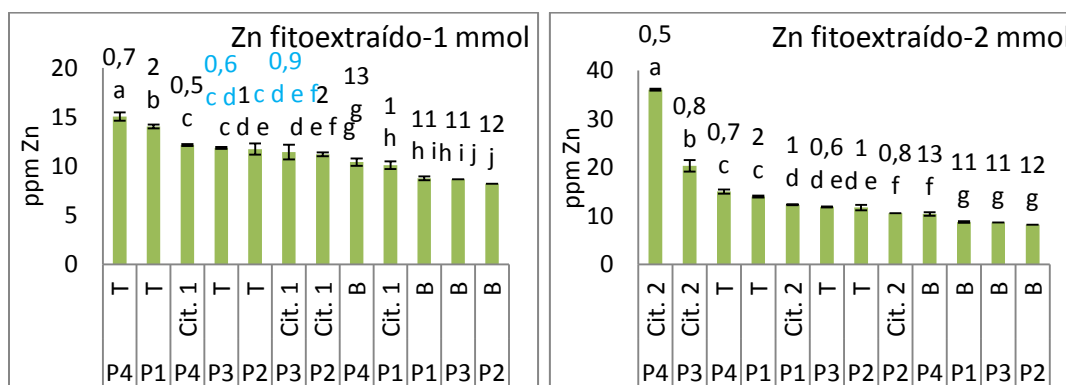


Figura 56. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio EDTA”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido etilendiamotetraacético.

El citrato de sodio de manera general no fue un ligante exitoso promoviendo la fitoextracción de zinc, a pesar de que en la mayoría de sus concentraciones superó en concentración extraída al testigo y al blanco. Solamente con tres milimoles de citrato de sodio la extracción aumentó pero no en gran medida, las demás concentraciones sólo rebasaron a los tratamientos testigo por aproximadamente el doble de lo que estos extrajeron como se observa en la figura 57.

Los µg totales de zinc extraídos por los tratamientos de citrato de sodio en ninguna de las concentraciones de ligante fueron altos, se mantuvieron muy similares a los tratamientos testigo y blanco.



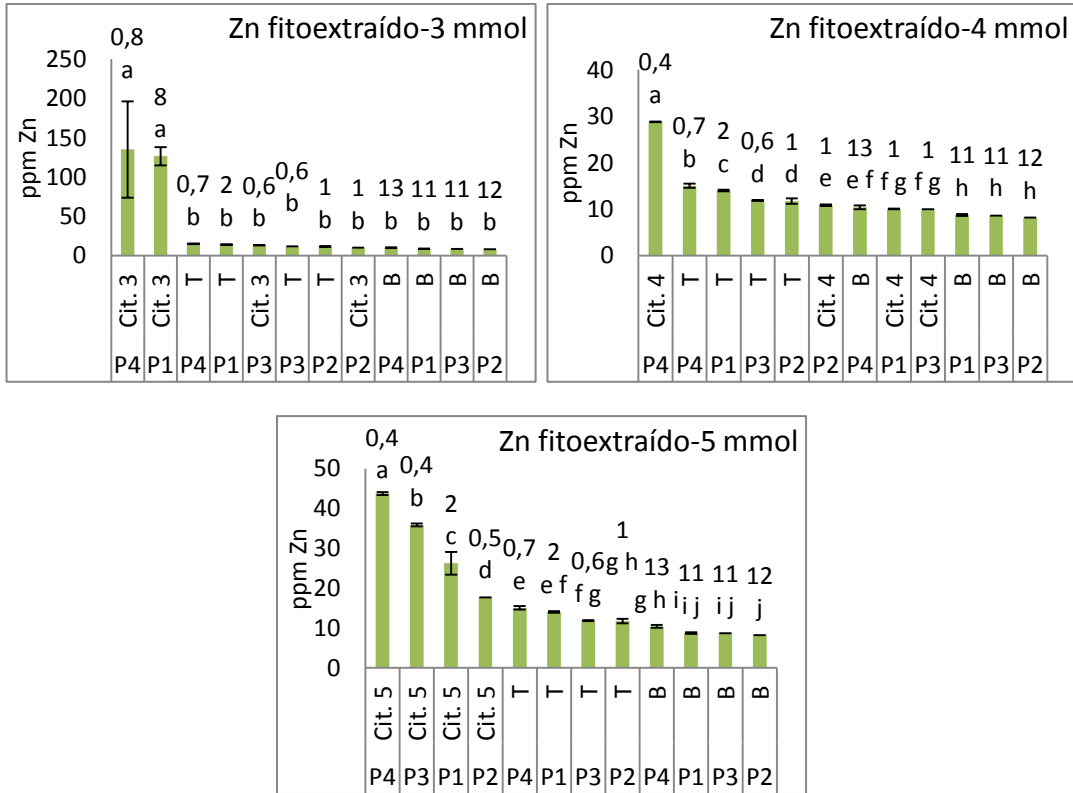


Figura 57. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Citrato de sodio”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Citrato de sodio.

Los tratamientos de ácido oxálico únicamente extrajeron concentraciones relativamente elevadas de zinc con un milimol (poda 1) y medianamente con cuatro milimoles (poda 3). Algunos de los tratamientos con este ligante fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos aunque su rendimiento de manera general fue bajo y no fue efectivo.

Las cantidades de zinc total extraído por el ácido oxálico fueron superiores al testigo por muy poco. Las únicas excepciones fueron como se mencionó antes con uno y cuatro milimoles de ligante.

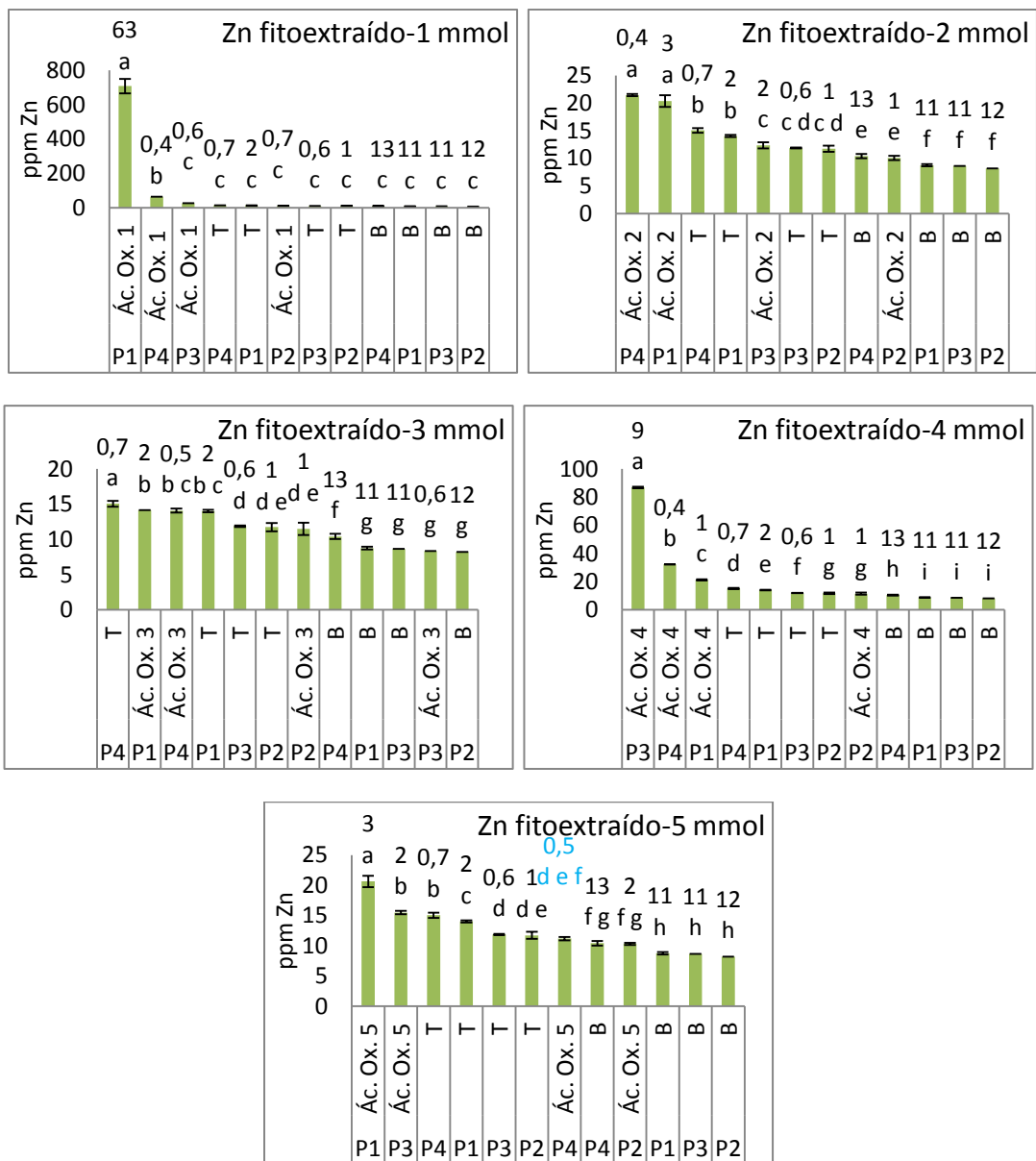


Figura 58. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido oxálico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido oxálico.

En la figura 59 se observan los tratamientos de ácido salicílico, las concentraciones de zinc extraídas fueron ligeramente mayores que las del testigo en la mayoría de las concentraciones de ligante aunque sólo durante las primeras dos o tres podas. En general el ácido salicílico no tuvo buen rendimiento ya las concentraciones extraídas se

asemejaron mucho a las del testigo y en ocasiones al blanco omitiendo sus únicas podas exitosas (P2-tres milimoles y P4-uno, dos, cuatro y cinco milimoles).

Los μg de zinc totales extraídos fueron prácticamente iguales a los del tratamiento testigo, y mucho más bajos que el blanco, únicamente con tres milimoles de ligante y en la poda 2 tuvo un despunte la cantidad de zinc extraído por el ácido salicílico, pero sin ser nada extraordinario.

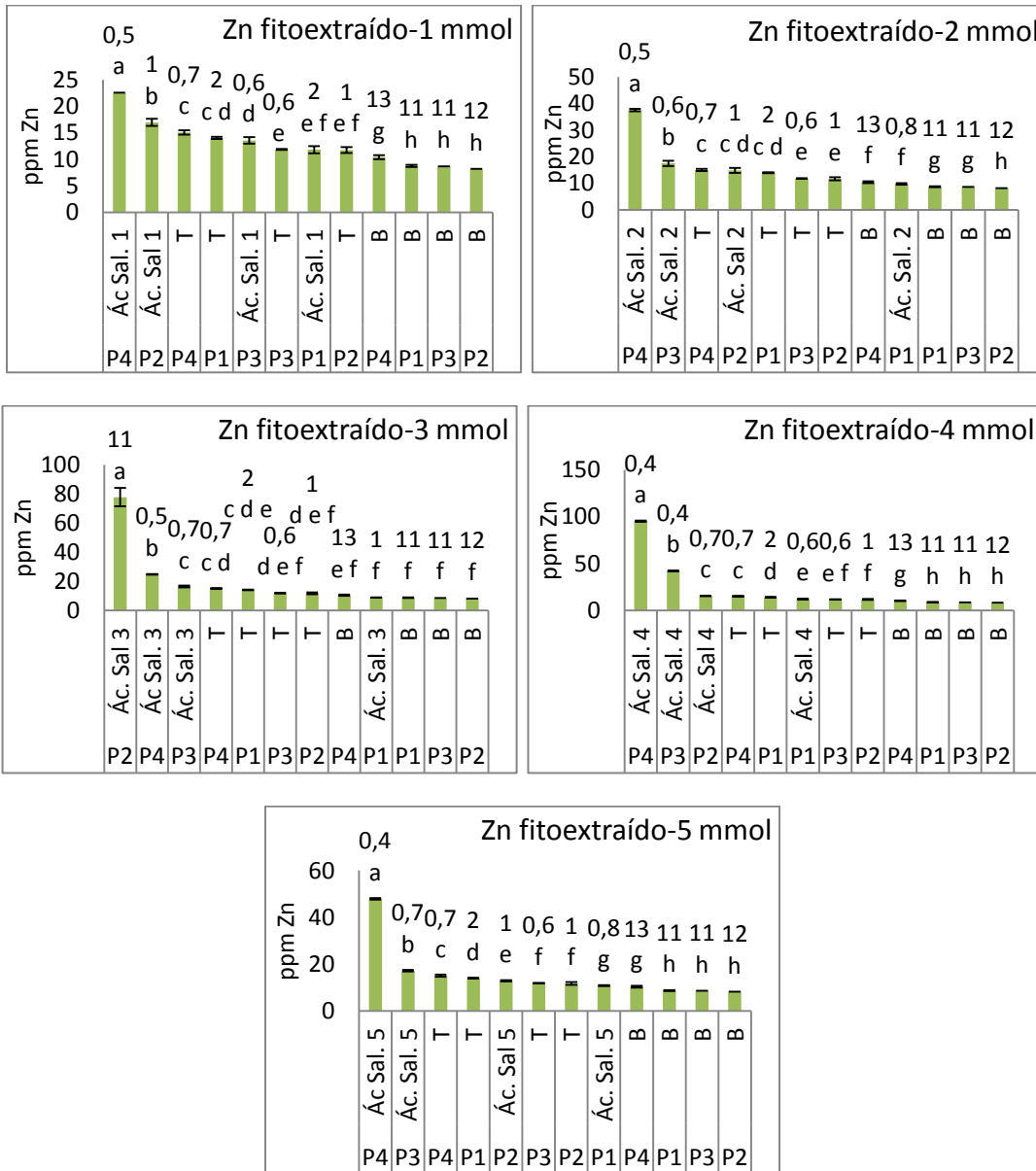
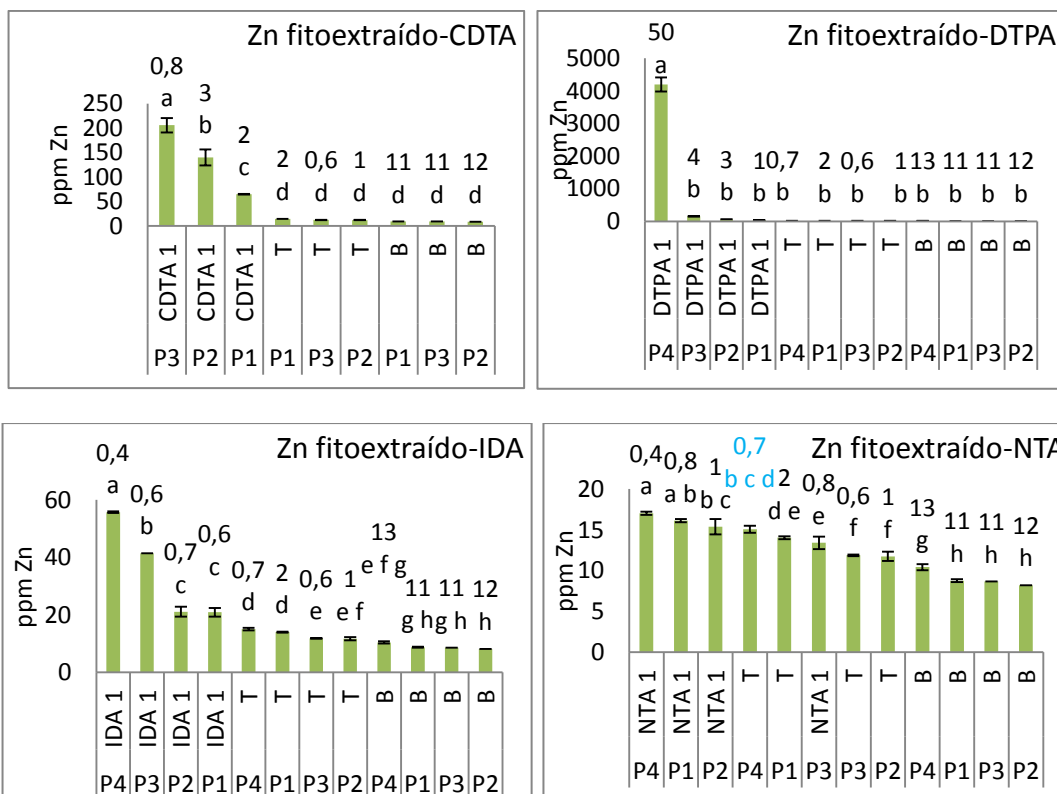


Figura 59. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio Ácido salicílico”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo y Ácido salicílico.

Para los tratamientos de ligantes que sólo contaron con una réplica, el DTPA mostró que en la poda 4 fue el único tratamiento significativamente diferente del experimento, en cambio los demás tratamientos de ligantes mostraron diversas diferencias significativas con los demás tratamientos a lo largo del experimento, aunque estos se comportaron de manera muy similar. El tratamiento de CDTA, el de DTPA y el de ácido picolínico fueron los que mayor concentración de zinc extrajeron, el tratamiento de CDTA a pesar de no haber extraído la mayor concentración de zinc fue el ligante que más estabilidad tuvo en el aumento de la acumulación y mostró a diferencia del DTPA y el ácido picolínico que hasta su última poda continuó el aumento en la extracción de la concentración de zinc.

La cantidad de zinc total extraído sólo fue alta para el DTPA en la poda 4, fuera de este caso todos los tratamientos tuvieron prácticamente la misma cantidad de µg de zinc que el tratamiento testigo y se encontraron por debajo del tratamiento blanco.



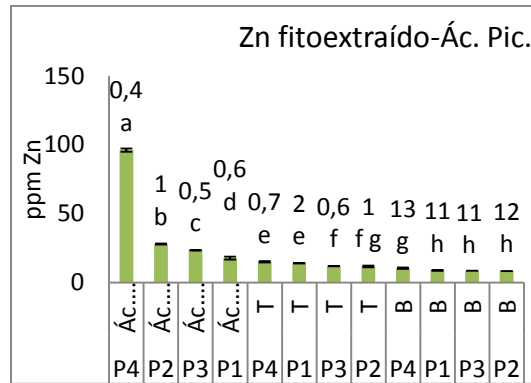


Figura 60. “Concentración de zinc fitoextraído (ppm) vs tratamientos de estudio CDTA, DTPA, IDA, NTA y Ácido Picolínico 1 milimol de ligantes/kg de suelo”. Las gráficas corresponden a cada una de las concentraciones del ligante, y se muestran las barras de error de cada tratamiento (Desviaciones estándar). También se exponen las letras correspondientes a las diferencias mínimas significativas al 95% existentes entre los tratamientos, letras diferentes corresponden a que hay diferencias entre los tratamientos, letras iguales corresponden a que no hay diferencias, adicionalmente se muestran sobre las letras las cantidades totales en µg de zinc en toda la biomasa producida. Los acrónimos corresponden a Blanco, Testigo, t-1,2-Diaminociclohexano-N, N, N', ácido N'-tetraacético, Ácido dietilentriaminopentaacético, Ácido iminodiacético, Ácido nitriloacético y Ácido picolínico.

DISCUSIÓN

El EDTA y el ácido oxálico son dos ligantes que comparten una característica y es que a bajas concentraciones sus desempeños fueron mejores que a altas concentraciones (un milimol/kg de suelo), por el contrario el citrato de sodio y el ácido salicílico trabajaron mejor a medianas concentraciones (tres y cuatro milimoles/kg de suelo). Se recalca que el citrato de sodio y el ácido salicílico tuvieron rendimientos bajos en general pero las concentraciones de ligante antes mencionadas mostraron resultados superiores al promedio. Clabeaux *et al.* (2013) y Lai & Chen (2004) concluyeron también que el EDTA a bajas concentraciones (1-3 mmol/kg) se desempeña mejor fitoextrayendo metales ya que es menos fitotóxico y aun así continúa complejando mucho a los metales. El ácido oxálico no coincide con lo reportado y es que como se explicó anteriormente este ligante requeriría concentraciones más elevadas para fitoextraer más concentración y cantidad de metal, sin embargo en nuestro caso fue al contrario y esto se auna a que cada tipo de planta se comportará distinto en presencia o ausencia del ligante a estudiar.

El DTPA es un buen candidato para próximas investigaciones porque muestra relativamente buenos rendimientos en extracción de concentración y cantidad de zinc, este ligante tiene un contra y es que su fitotoxicidad es alta como la del EDTA. El pasto del tratamiento de CDTA no tuvo un muy buen rendimiento en la fitoextracción en el experimento y mostró un comportamiento poco favorable extrayendo zinc, sin embargo se puede postular también como objeto de estudio en posteriores experimentos.

A lo largo del experimento se observó un comportamiento y es que el pasto en las podas 3 y 4 extraía más concentración y cantidad de metales, esto puede relacionarse con la

investigación realizada con *Festuca arundinacea* por Wang *et al.* (2019) quienes proponen que la fitoextracción se realice podando sólo hojas muertas y senescentes, ya que estas actúan como “sacrificio” para conservar viva a la planta y la limpia de la mayor cantidad de metales posibles, las hojas sacrificadas según lo obtenido en la investigación contenían 46 y 15 veces más metal que el testigo. Se cree que podría haber relación con lo sucedido en el experimento antes mencionado porque en las podas 3 y 4 algunos de los cortes se realizaron en ese estado (a biomasa senescente o muerta).

RESUMEN GENERAL DEL ANÁLISIS

Los tratamientos de EDTA mostraron los mejores rendimientos fitoextrayendo las concentraciones más altas de los cuatro metales en general, sin embargo este ligante tiene una desventaja y es que fue uno de los ligantes que aportó la mayor fitotoxicidad a la planta. Las plantas expuestas a esta clase de ligantes usualmente presentan cuadros de clorosis, necrosis y/o la muerte, como lo enfatizan Clabeaux *et al.* (2013), Evangelou *et al.* (2007), Komárek *et al.* (2006), (2010) y Quartacci *et al.* (2007).

Por otro lado los tratamientos de ligantes del tipo ácidos orgánicos de bajo peso molecular (ácido oxálico y salicílico) tuvieron un rendimiento más bajo en comparación con el de EDTA fitoextrayendo metales, pero este tipo de ligantes tienen la ventaja de proveer mucha menor fitotoxicidad a la planta por lo que se pueden adicionar en mayores concentraciones, también tienen la característica de ser altamente biodegradables. Un ligante que es reportado como un agente quelante efectivo en la fitoextracción de metales pesados es el ácido málico, que posee características similares a las del ácido oxálico, salicílico o cítrico y es propuesto como objeto de estudio según Evangelou *et al.* (2007), Quartacci *et al.* (2007), Wang *et al.* (2017).

Se plantea un mecanismo general de cómo se da el fenómeno de absorción de metales por parte de la planta, de acuerdo con lo reportado por los autores anteriormente citados. Se comienza con la absorción de especies solubles a través de las raíces, esas especies solubles viajan vía simplasmática a través de los plasmodesmos de las células hasta llegar a la endodermis, atraviesan la endodermis y la barrera de Caspary que funcionan como filtro. Los complejos solubles viajan vía absorción pasiva a través del xilema hacia la parte aérea de la planta.

El agua del suelo puede ser absorbida por las raíces mediante dos vías.

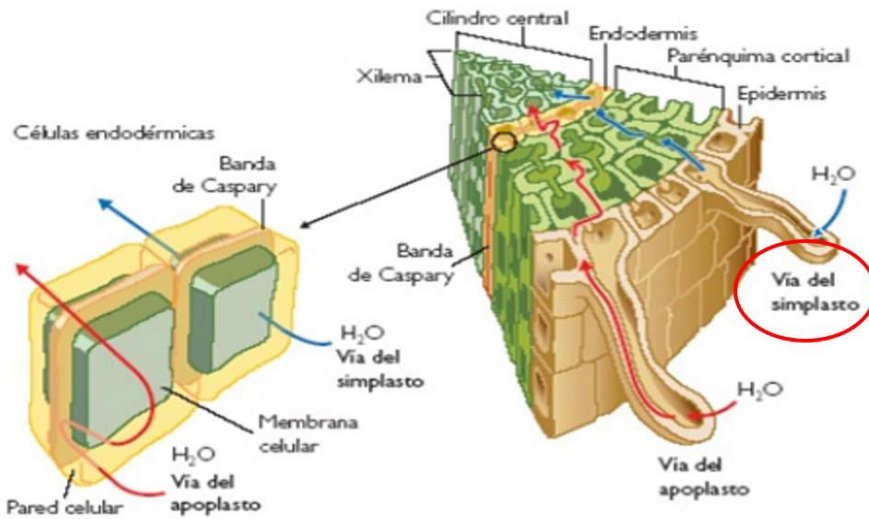


Figura 61. “Esquema de la vía simplástica y apoplástica en el transporte de agua por parte de las raíces de una planta”. Imagen tomada de: <https://www.youtube.com/watch?v=3LBVrIQzqBM>.

Para el caso particular de la absorción de plomo por parte de la planta se plantea un mecanismo distinto al de los demás metales. Se comienza con la absorción de las especies solubles de plomo a través de las raíces, estas especies solubles viajan vía apoplástica a través de las paredes celulares hasta llegar a la endodermis, donde son detenidos gracias a las membranas celulares sin poder pasar por la endodermis y la barrera de Caspary. Las membranas celulares están formadas por glicerolípidos polares, estos a su vez están conformados por ácidos grasos, azúcares y ésteres fosfato principalmente, el plomo soluble al interactuar con el fosfato de la membrana precipita como fosfato de plomo, entonces el plomo se comienza a almacenar en los espacios intercelulares (espacios que hay entre célula y célula) de las paredes celulares.

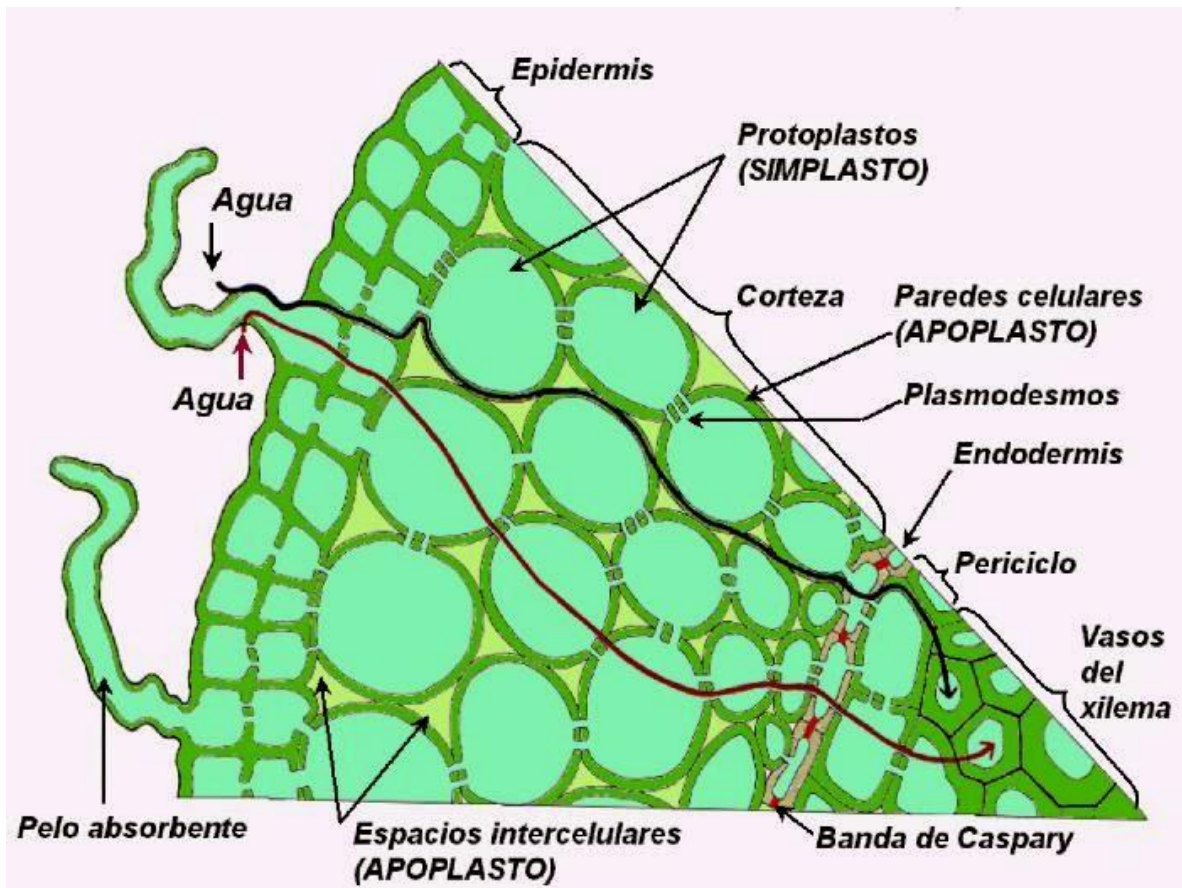


Figura 62. "Transporte de agua por parte de las raíces de una planta vía apoplasto y simplasto". Imagen tomada de: <http://fisiolvegetal.blogspot.com/2012/09/movimiento-de-materiales-traves-de-las.html>.

Como se explicó antes los ligantes aportan fitotoxicidad a la planta, pero el medio de crecimiento es la principal causa de daños al pasto, debido a la falta o baja disponibilidad de Fe, Mn, Cu y Zn y el exceso de Ca y Mg, como se explicó anteriormente. Existen algunas alternativas para mejorar las características del medio de crecimiento las cuales son la adición de materia orgánica (MO) y/o de fosfatos, ambas mejorarían mucho el desarrollo de la planta en general pero también tendrían algunas desventajas como disminuir la disponibilidad de metales pesados en el medio por la precipitación de los mismos a causa de los fosfatos, o el descenso del pH a causa de la materia orgánica, lo que pudiese provocar una posible lixiviación de los metales pesados; cabe mencionar que estos métodos están más destinados a la remediación del suelo que a la fitoextracción de los metales como lo explica Cruz (2017) y Komárek *et al.* (2010).

Tabla 10. Cantidades de biomasa total colectada de cada uno de los tratamientos durante las cuatro podas, además se muestran las cantidades de Cu, Pb, Cd y Zn extraído en cada tratamiento. Los tratamientos resaltados en **amarillo** fueron los más efectivos extrayendo metal, y los tratamientos marcados con **azul** fueron medianamente efectivos.

Cantidades de biomasa (g)																
Tratamiento	Poda 1				Poda 2				Poda 3				Poda 4			
T	0.1398				0.1041				0.0477				0.0455			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
B	1.2129				1.4050				1.2564				1.2285			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
EDTA 1	0.1170				0.0712				0.0082				-			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn				
EDTA 2	0.1325				0.0290				-				-			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn								
EDTA 3	0.0939				0.0397				-				-			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn								
EDTA 4	0.1127				0.0258				-				-			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn								
EDTA 5	0.0611				0.0475				-				-			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn								
Ác. Sal. 1	0.0920				0.1198				0.0449				0.0223			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Ác. Sal. 2	0.0807				0.0941				0.0339				0.0120			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Ác. Sal. 3	0.1358				0.1475				0.0447				0.0198			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Ác. Sal. 4	0.0464				0.0437				0.0105				0.0045			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Ác. Sal. 5	0.0762				0.1024				0.0391				0.0090			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Cit. 1	0.1207				0.1595				0.0756				0.0395			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Cit. 2	0.0788				0.0754				0.0368				0.0131			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Cit. 3	0.0604				0.0953				0.0485				0.0058			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Cit. 4	0.0970				0.1358				0.1385				0.0151			
Cant. de metal obtenido (μg)	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn

Cit. 5	0.0674				0.0295				0.0131				0.0101			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 9	Pb 8	Cd 8	Zn 2	Cu 2	Pb 2	Cd 0.2	Zn 0.5	Cu 0.9	Pb 4	Cd 0.1	Zn 0.5	Cu 7	Pb 3	Cd 0.3	Zn 0.4
Ác. Ox. 1	0.0883				0.0578				0.0211				0.0066			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 16	Pb 21	Cd 72	Zn 63	Cu 6	Pb 6	Cd 0.7	Zn 0.7	Cu 2	Pb 3	Cd 0.1	Zn 0.6	Cu 9	Pb 3	Cd 0.1	Zn 0.4
Ác. Ox. 2	0.1291				0.1653				0.1155				0.0203			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 17	Pb 16	Cd 24	Zn 3	Cu 12	Pb 13	Cd 1	Zn 2	Cu 12	Pb 14	Cd 3	Zn 1	Cu 16	Pb 4	Cd 0.3	Zn 0.4
Ác. Ox. 3	0.1161				0.1251				0.0773				0.0338			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 19	Pb 21	Cd 45	Zn 2	Cu 16	Pb 19	Cd 1	Zn 1	Cu 2	Pb 2	Cd 0.2	Zn 0.6	Cu 31	Pb 13	Cd 1	Zn 0.5
Ác. Ox. 4	0.0661				0.0926				0.0986				0.0136			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 6	Pb 6	Cd 2	Zn 1	Cu 16	Pb 10	Cd 6	Zn 1	Cu 8	Pb 9	Cd 2	Zn 0.4	Cu 9	Pb 4	Cd 0.3	Zn 0.4
Ác. Ox. 5	0.1557				0.1577				0.1159				0.0457			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 29	Pb 29	Cd 118	Zn 3	Cu 15	Pb 13	Cd 0.4	Zn 2	Cu 21	Pb 23	Cd 0.4	Zn 2	Cu 18	Pb 8	Cd 0.5	Zn 0.5
CDTA 1	0.0300				0.0219				0.0039				-			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 10	Pb 13	Cd 2	Zn 2	Cu 18	Pb 22	Cd 3	Zn 3	Cu 3	Pb 4	Cd 0.4	Zn 0.8				
DTPA 1	0.0304				0.0462				0.0258				0.0119			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 7	Pb 5	Cd 1	Zn 1	Cu 36	Pb 16	Cd 4	Zn 3	Cu 14	Pb 2	Cd 2	Zn 4	Cu 6	Pb 63	Cd 0.6	Zn 50
IDA 1	0.0264				0.0330				0.0154				0.0077			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 15	Pb 3	Cd 0.1	Zn 0.6	Cu 14	Pb 3	Cd 0.2	Zn 0.7	Cu 14	Pb 4	Cd 0.3	Zn 0.6	Cu 3	Pb 13	Cd 0.1	Zn 0.4
NTA 1	0.0492				0.0813				0.0567				0.0259			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 7	Pb 6	Cd 0.5	Zn 0.8	Cu 14	Pb 7	Cd 0.6	Zn 1	Cu 6	Pb 4	Cd 0.4	Zn 0.8	Cu 12	Pb 13	Cd 0.3	Zn 0.4
Ác. Pic. 1	0.0335				0.0453				0.0222				0.0045			
<i>Cant. de metal obtenido (μg)</i>	Cu 8	Pb 3	Cd 2	Zn 0.6	Cu 11	Pb 15	Cd 3	Zn 1	Cu 2	Pb 1	Cd 1	Zn 0.5	Cu 3	Pb 2	Cd 0.1	Zn 0.4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- En este estudio el pasto de *Festuca arundinacea* se catalogó como una planta tolerante a los metales pesados, debido a que logró adaptarse y desarrollarse en el medio de crecimiento del jal (tratamiento testigo), además de que hubo metales cuantificados en su biomasa. Lo anterior es una etiqueta empírica, ya que la metodología reportada para determinar los parámetros “sensible, tolerante o acumuladora” debe involucrar el estudio en las raíces de la planta como variable y en este estudio no se usaron las raíces por los motivos mencionados en la sección 2.1.
- Según lo evaluado en los estudios de fitoextracción de metales pesados por *Festuca arundinacea*, los tratamientos de EDTA, los de ácido oxálico y los de ácido salicílico tuvieron un efecto positivo importante sobre la fitoextracción de metales pesados mejorando el proceso de absorción-fitoacumulación, con respecto al sistema sin ligantes; por otro lado la adición de citrato de sodio no mostró una mejoría significativamente mayor en la fitoextracción con respecto a los demás tratamientos con ligantes y el testigo. De los ligantes propuestos para abrir nuevas líneas de investigación, el DTPA fue el ligante que mejor desempeño mostró comparado con los demás tratamientos con ligantes y el testigo (y a excepción del EDTA), a pesar de sólo haberse estudiado su efecto con una réplica.
- El EDTA promovió de manera muy efectiva la fitoextracción de Cu, Pb y Cd en todas sus concentraciones; sin embargo estos tratamientos resultaron poseer una alta toxicidad que eventualmente resultó en la muerte a corto plazo de la planta, contrario a lo que otros investigadores han reportado. Por la razón antes descrita se recomienda realizar estudios con concentraciones más bajas de este ligante y extender el tiempo entre adición de ligantes y podas, con el fin de mantener a la planta viva y extrayendo metales por más tiempo.
- Los tratamientos con ácido oxálico a concentraciones de uno y cinco milimoles/kg de suelo, mostraron buenos resultados en términos de la fitoextracción de Cu, Pb, Cd y Zn (el zinc sólo con 1 milimol/kg de suelo, en comparación con los demás tratamientos con ligantes y el testigo), aunque sus resultados fueron siempre más bajos que los del EDTA. Por otra parte, el ácido salicílico a concentraciones de uno y tres milimoles mostró comportamientos relativamente altos, pero por debajo de los del ácido oxálico, la ventaja de estas dos especies químicas sobre el EDTA es que mostraron ser menos fitotóxicos, motivo por el cual la planta se desarrolló mejor y vivió por mucho más tiempo bajo estos tratamientos. Con este par de ligantes también se podría experimentar a diferentes concentraciones (más altas o bajas) dependiendo del caso hasta encontrar las mejores condiciones de fitoextracción.

- Un punto a favor del uso del EDTA y de los ácidos oxálico y salicílico como mejoradores de la fitoextracción de metales, es que son sustancias más baratas y de fácil adquisición en comparación con ligantes como el CDTA, el DTPA, el IDA o el NTA que pueden ser sustancias más costosas y de más difícil adquisición.
- En el caso del tratamiento de DTPA éste mostró buenos resultados, pero no muy fiables, al haber poseído sólo una réplica, promovió la fitoextracción de Pb y Zn, arrojando buenos resultados por encima del EDTA en el caso del zinc. La desventaja que pudiera presentar el uso de este ligante se describe en el párrafo de arriba, además de lo ya mencionado referente a la toxicidad que proveen a las plantas este tipo de ligantes.
- Una recomendación para mejorar el desempeño de futuros experimentos es adicionar de un 20% a 25% de materia orgánica, esto basándose en los resultados obtenidos por Cruz Ruiz (2017), o de biocarbon según lo expuesto por Nuñez Balderas *et al.* (2020), ambas opciones con el fin de disminuir la toxicidad del jal y proveer a la planta una mayor cantidad de nutrientes. En general se recomiendan estas modificaciones al experimento para buscar un mejor desarrollo de la planta, así como en la producción de biomasa, pero sin afectar en gran medida la biodisponibilidad de los metales pesados.
- Una meta de mediano a largo plazo con experimentos de este tipo es proyectar la investigación como una técnica viable de fitominería, beneficiando los metales en forma elemental para su posterior uso en la industria, además de hacer uso de esta técnica también para fitoremediar suelos contaminados con metales pesados.

5. REFERENCIAS

- Aguirre G. A. (1981). *Síntesis y actividad fitohormonal de algunos ácidos fenoxiáceticos en Pelargonium inquinans* (Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
- Aguirre G. A. (2001). *Química de los suelos ácidos, templados y tropicales*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Aparajith.B, Kumar, A., Hodder, D., & Gupta, M. (2010). Recovery of cadmium from hydrometallurgical zinc smelter by selective leaching. *Hydrometallurgy*, 102(1-4), 31-36.
- Attinti, R., Barrett, K., Datta, R., & Sarkar, D. (2017). Ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) enhances phytoextraction of lead by vetiver grass from contaminated residential soils in a panel study in the field. *Environmental Pollution*, 225, 524-533.
- Azcón-Bieto, J. & Talón, M., (2000). *Fundamentos de fisiología vegetal (2a. ed.)*. McGraw-Hill España.
- Baker, A., Mc Grath, S., Reeves, R., & Smith, J. (2000). Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. *Phytoremediation Of Contaminated Soil And Water*, 85-107.
- Bosiacki, M. (2008). Accumulation of cadmium in selected species of ornamental plants. *Acta Scientiarum Polonorum*, 7(2), 21-31.
- Boyd, R. (2004). Ecology of metal hyperaccumulation. *New Phytologist*, 162(3), 563-567.
- Butter, T., Evison, L., Hancock, I., Holland, F., Matis, K., & Philipson, A. et al. (1998). The removal and recovery of cadmium from dilute aqueous solutions by biosorption and electrolysis at laboratory scale. *Water Research*, 32(2), 400-406.
- Chadwick, J. (2004). Three leading industry experts examine emerging technologies for mine restoration. *Mining Environmental Management*.
- Chaney, R., L. Brown, S., I. Stuczynsky, T., Lee Daniels, W., L. Henry, C., & Li, Y. et al. (2000). Risk assesment and remediation of soils contaminated by mining and smelting of lead, zinc and cadmium. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 16, 175-192.
- Chaussin, C., Hilly, G., & Chevenard, P. (1975). *Metalurgia*. Bilbao: Urmo.
- Chen, C., Shih, Y., & Huang, Y. (2016). Recovery of lead from smelting fly ash of waste lead-acid battery by leaching and electrowinning. *Waste Management*, 52, 212-220.
- Chen, J. (2013). *Decontamination of heavy metals*. Boca Raton: CRC Press.
- Chhotu D., J., & M. H., F. (2009). Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African Journal Of Biotechnology*, 8, 921-928.

Clabeaux, B., Navarro, D., Aga, D., & Bisson, M. (2013). Combined effects of cadmium and zinc on growth, tolerance, and metal accumulation in *Chara australis* and enhanced phytoextraction using EDTA. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 98, 236-243.

Cruz Ruiz, E. (2017). *Efecto del encalado, abonado y fertilización de jales mineros ácidos sobre la biodisponibilidad química y bioacumulación de Cu, Cd, Pb y Zn en Festuca arundinacea* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.

Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O.. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.

Ernst, W. (1996). Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied Geochemistry*, 11(1-2), 163-167.

Evangelou, M., Ebel, M., & Schaeffer, A. (2007). Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68(6), 989-1003.

Fogarasi, S., Imre-Lucaci, F., Imre-Lucaci, Á., & Ilea, P. (2014). Copper recovery and gold enrichment from waste printed circuit boards by mediated electrochemical oxidation. *Journal Of Hazardous Materials*, 273, 215-221.

Gheju, M., & Stelescu, I. (2013). Chelant-assisted phytoextraction and accumulation of Zn by *Zea mays*. *Journal Of Environmental Management*, 128, 631-636.

Ginocchio, R., & Baker, A. (2004). Metallophytes in Latin America: a remarkable biological and genetic resource scarcely known and studied in the region. *Revista Chilena De Historia Natural*, 77(1).

Gomez Sosa G. (2019). *Introducción al equilibrio en compuestos de coordinación (Complejos)*. México. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/15.Complejosintroduccion_9309.pdf

Gutiérrez Ruíz, M., M. Romero, F., y Gonzáles Hernández, G. (2007). *Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México*. *Scielo*, 24. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1026-87742007000200005

Harris, D. (2002). *Análisis químico cuantitativo*. 2nd ed. New York: Freeman.

Hernández, J., Martínez Cruz, G., Martínez Morua, G., Rodríguez Pozos, M., & Rodríguez Hidalgo, M. (2012). *Manual de actividades experimentales de electroquímica y corrosión*. Manual de laboratorio.

Holze, R. (2009) *Experimental Electrochemistry*. WILEY-VCH.

INEGI, I. (2019). *Minería*. México. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/temas/mineria/>

- Kidd, P., Becerra Castro, C., García Lestón, M., & Monterroso, C. (2007). Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Asociación Española De Ecología Terrestre*, 16, 26-43.
- Komárek, M., Tlustoš, P., Száková, J., Chrastný, V., & Ettler, V. (2007). The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils. *Chemosphere*, 67(4), 640-651.
- Komárek, M., Vaněk, A., Mrnka, L., Sudová, R., Száková, J., Tejnecký, V., & Chrastný, V. (2010). Potential and drawbacks of EDDS-enhanced phytoextraction of copper from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 158(7), 2428-2438.
- Lai, H., & Chen, Z. (2004). Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. *Chemosphere*, 55(3), 421-430.
- Lasat, M. (2002). Phytoextraction of Toxic Metals. *Journal Of Environment Quality*, 31(1), 109.
- Lombi, E., Zhao, F., Dunham, S., & McGrath, S. (2001). Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils. *Journal Of Environment Quality*, 30(6), 1919.
- Ma, C., Ming, H., Lin, C., Naidu, R., & Bolan, N. (2016). Phytoextraction of heavy metal from tailing waste using Napier grass. *CATENA*, 136, 74-83.
- Madrid, F., Liphadzi, M., & Kirkham, M. (2003). Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *Journal Of Hydrology*, 272(1-4), 107-119.
- Martín Romero, F. y Gutiérrez Ruíz, M. (2010). *Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México*. Scielo, 62. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-33222010000100004
- McKean, S. (1993). *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal*.
- Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M., Samson, D., & Tack, F. (2004). Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58(8), 1011-1022. doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.09.047
- Medina Marcos, K., & Montano Cháves, Y. (2014). *Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de matalas pesados en el Juncus arcticus Willd y Cortaderia rudiusscula Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza-Ancash 2013* (Licenciatura). Universidad Nacional "Santiago Atúnez de Mayolo" Facultad de Ciencias del Ambiente.
- Mulas Fernández R. (2019). *Fitoremediación de suelos*. España, Valladolid. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IQM_fitorremediacion_Valladolid_25615.pdf
- Munsell soil color charts*. (1994). Baltimore, Maryland.

Neut Villanueva, F. (2017). *Propuesta de proceso de obtención de cobre desde concentrado con uso de líquido iónico* (Licenciatura). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

NOM-021-RECNAT-2000. (2020). Recuperado de <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>

Núñez-Balderas, L.V., A. Aguirre-Gómez, C. Hidalgo-Moreno, N. Carrillo-Ávila, J. D. Etchevers-Barra (2020). *Acid residues remediation from mines using biochar, monopotassium phosphate and lime* Rev. Int. Contam. Ambie. 36 (3) 593-605, 2020 <https://doi.org/10.20937/RICA.53224>

Page, A., Miller, R., & Keeney, D. (1982). *Methods of soil analysis* (2nd ed.). Madison, Wis.: American Society of Agronomy.

Pan, J., Zhang, C., Sun, Y., Wang, Z., & Yang, Y. (2012). A new process of lead recovery from waste lead-acid batteries by electrolysis of alkaline lead oxide solution. *Electrochemistry Communications*, 19, 70-72.

Pilon-Smits, E., Hwang, S., Mel Lytle, C., Zhu, Y., Tai, J., & Bravo, R. et al. (1999). Overexpression of ATP Sulfurylase in Indian Mustard Leads to Increased Selenate Uptake, Reduction, and Tolerance. *Plant Physiology*, 119(1), 123-132.

Quartacci, M., Irtelli, B., Baker, A., & Navari-Izzo, F. (2007). The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. *Chemosphere*, 68(10), 1920-1928.

Salas Megchún, É. (2014). *Geoquímica y mineralogía de jales en mina Aurora, Xichú, Guanajuato* (Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.

Sadzawka R., A., Grez Z., R., Carrasco R., M., & Mora G., M. (2004). *Métodos de análisis de tejidos vegetales*.

SEMARNAT-2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis". Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Recuperado de <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>

SGS. (2019). *Digestión de agua regía y dos ácidos*. México. Recuperado de <https://www.sgs.mx/es-es/mining/analytical-services/geochemistry/digestion-and-fusion/two-acid-digest-and-aqua-regia-digest>

Shumo, M., Taha, K., Ahemad, A., Hamid, H., & Andullah, P. (2014). Digestion with HNO₃/H₂O₂ Mixture for Determination of Trace Elements in Sediment Using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal Of Applied And Industrial Sciences*, 2(2), 85-92.

Skoog, D., West, D., Holler, F., & Crouch, S. *Fundamentals of analytical chemistry* (6th ed.). McGraw Hill.

Solano Marín AM.(2019). *Capitulo III El cinc y su metalurgia*. Recuperado de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/11036/Tasm04de16.pdf>

Spitz, K & Trudinguer. (2009). *MINING AND THE ENVIRONMENT*. [S.I.]: CRC PRESS.

Tangahu, B., Sheikh Abdullah, S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., & Mukhlisin, M. (2011). A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal Of Chemical Engineering*, 2011, 1-31.

Torrens H. (2019). *Ácidos y bases duros y blandos*. México. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4-6-ABDB_28044.pdf

Wang, B., Xie, Z., Chen, J., Jjang, J., & Su, Q. (2008). Effects of field application of phosphate fertilizers on the availability and uptake of lead, zinc and cadmium by cabbage (*Brassica chinensis* L.) in a mining tailing contaminated soil. *Journal Of Environmental Sciences*, 20(9), 1109-1117.

Wang, J., Xia, J., & Feng, X. (2017). Screening of chelating ligands to enhance mercury accumulation from historically mercury-contaminated soils for phytoextraction. *Journal Of Environmental Management*, 186, 233-239.

Wang, S., Dong, Q., & Wang, Z. (2017). Differential effects of citric acid on cadmium uptake and accumulation between tall fescue and Kentucky bluegrass. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 145, 200-206.

Xiong, P., He, C., OH, K., Chen, X., Liang, X., & Liu, X. et al. (2018). *Medicago sativa* L. enhances the phytoextraction of cadmium and zinc by *Ricinus communis* L. on contaminated land in situ. *Ecological Engineering*, 116, 61-66.

Yang, B., Wang, C., Li, D., Yin, F., Chen, Y., & Wang, N. (2010). Selective separation of copper and cadmium from zinc solutions by low current density electrolysis. *Transactions Of Nonferrous Metals Society Of China*, 20(3), 533-536.

Zacarías Salinas, M., Beltrán Villavicencio, M., Bustillos, L., & González Aragón, A. (2012). Assessment of in situ and ex situ phytoremediation with grass mixtures in soils polluted with nickel, copper, and arsenic. *Physics And Chemistry Of The Earth, Parts A/B/C*, 37-39, 52-57.

Zhu, Y., Pilon-Smits, E., Tarun, A., Weber, S., Jouanin, L., & Terry, N. (1999). Cadmium Tolerance and Accumulation in Indian Mustard Is Enhanced by Overexpressing γ -Glutamylcysteine Synthetase. *Plant Physiology*, 121(4), 1169-1177.

ANEXO I. Curvas de calibración de Cu, Pb, Cd y Zn

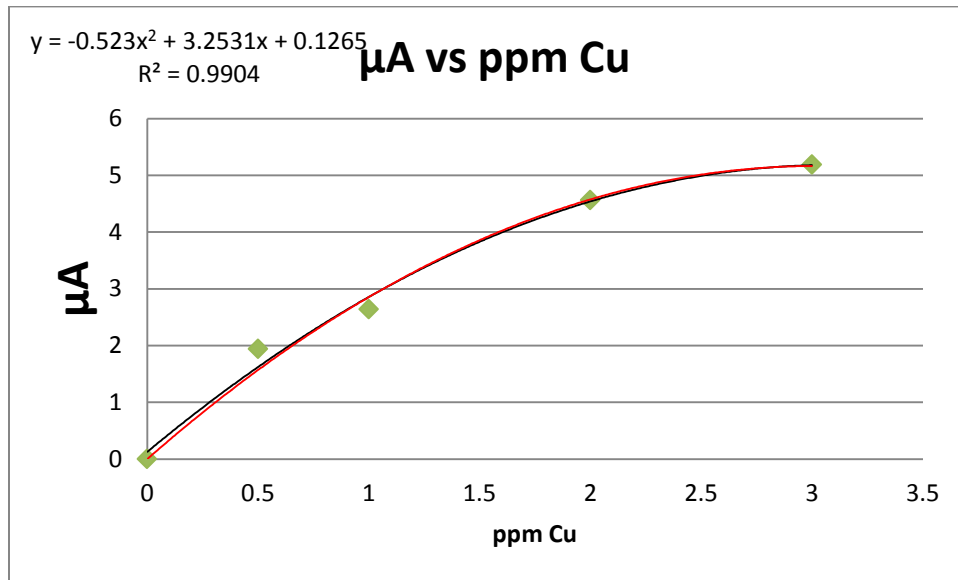


Figura A1. Curva de calibración de cobre.

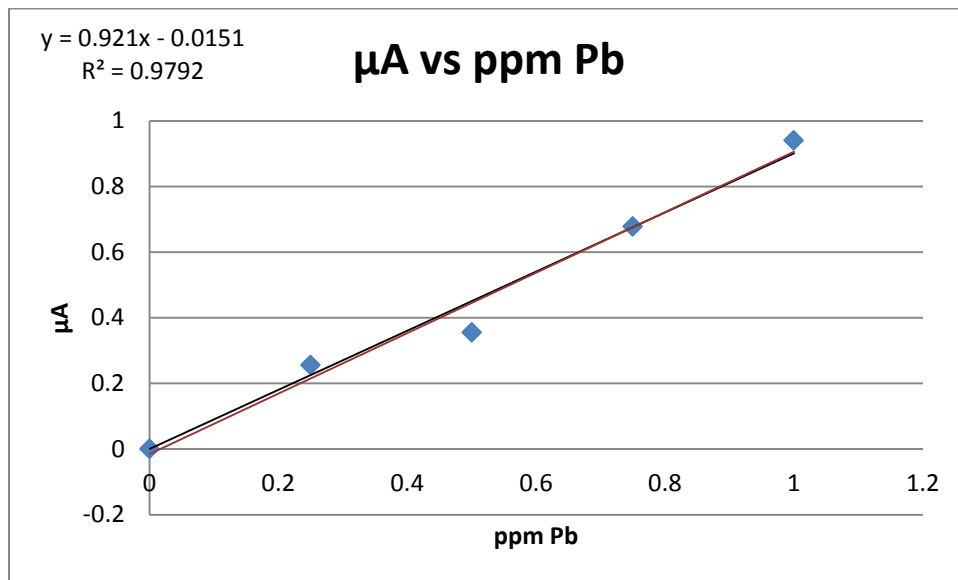


Figura A2. Curva de calibración de plomo.

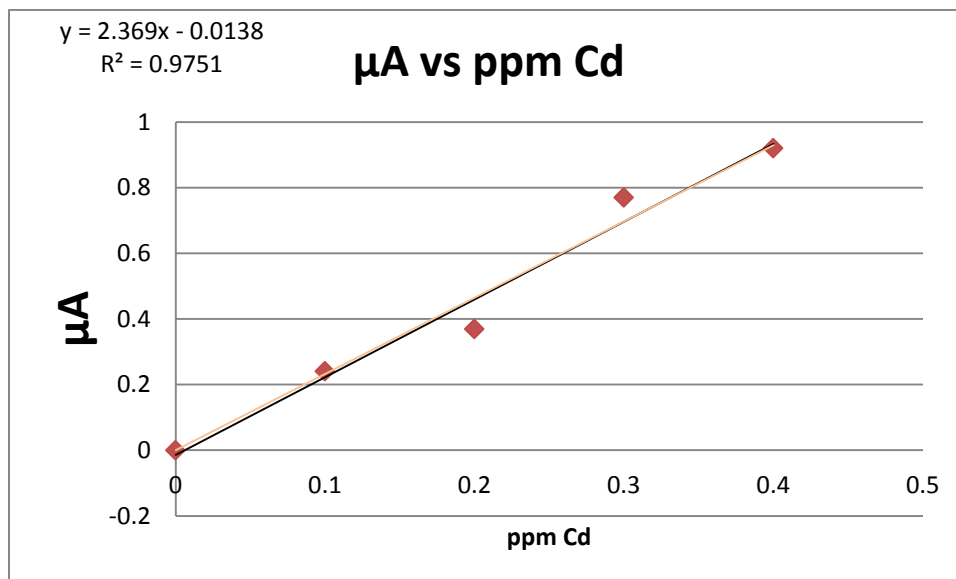


Figura AA3. Curva de calibración de cadmio.

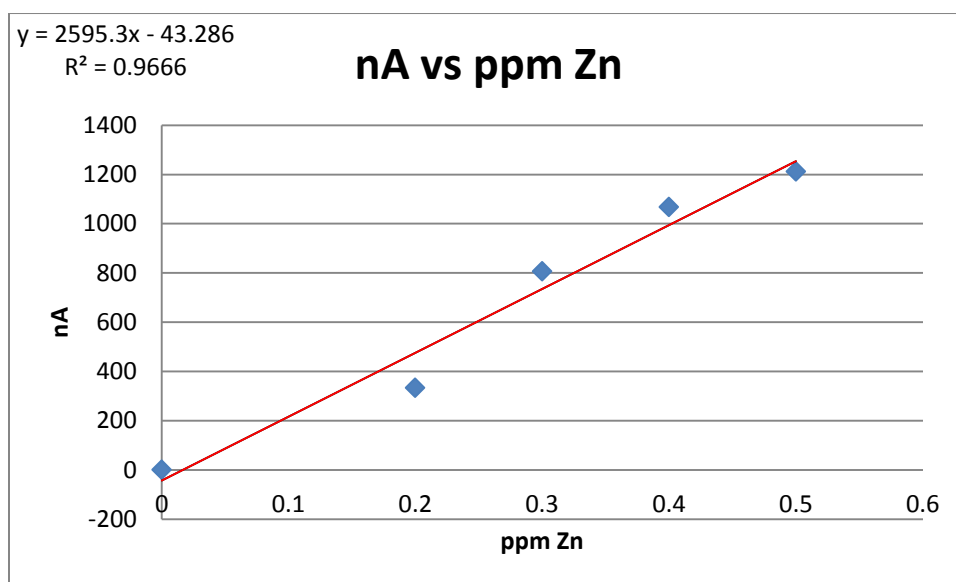


Figura A4. Curva de calibración de zinc.

ANEXO II. Tabla de preparación de soluciones de ligantes

Ligante	Cantidad preparada (mL)	Cantidad pesada (mg)
EDTA	1000	56059.334
CDTA	100	3394.132
DTPA	100	3854.83
IDA	100	2441.474
NTA	100	1892.291
Ácido oxálico	1000	12607

Ácido salicílico	1000	13770.564
Ácido picolínico	100	1218.740
Citrato de sodio	1000	7478.067

ANEXO III. Cálculos estadísticos realizados a los tratamientos de estudio

P2 Cu/2 mmol	P2	P2	P2	P2	P2	P2	Indicación de la poda
Tratamiento	T	B	EDTA 2	Ác. Sal. 2	Cit. 2	Ác. Ox. 2	Tratamiento y número que indica la concentración de ligante
Muestra	3	4	6	11	16	21	Número de identificación
ppm (I)	108,42958	28,851385	1188,25714	96,906625	1121,8529	132,21332	ppm calculadas
ppm (II)	115,56041	41,941658	1103,78027	73,714018	1143,6937	125,98033	
n	2	2	2	2	2	2	Σ(n)
Σ(Xi)	223,98999	70,793042	2292,03741	170,62064	2265,5466	258,19365	Σ(Xi) G
X̄	111,995	35,396521	1146,01871	85,310321	1132,7733	129,09682	Σ(X̄)
(Xi)^2	25111,183	2591,505	2630285,92	14824,65	2566589,2	33351,405	Σ(Xi^2)
(Xi)^2/n	25085,759	2505,8274	2626717,75	14555,702	2566350,7	33331,98	Σ(Xi^2/n)
(X)^2	25,424333	85,677627	3568,17065	268,94852	238,50941	19,425037	Σ((X)^2)
g.l	1	1	1	1	1	1	Σ(g.l)
							Sumatorias
							Cuadrado medio del error
Fuente de var.	g.l	Sum c.	C.M.E	F exp.	F tab. (0,05)		
Trats. 2 mmol (t)	5	2324239,7	464847,94	663,09664	4,39		teórico Puntos de búsqueda en las tablas
Error 2 mmol (e)	6	4206,1556	701,025928		Sacada de tablas		5,6
t Student 95%	1,943		DE	42,238434	10,92038	3,1164913	3,5654125
Sacada de tablas			ERROR	266,69347	68,95128	19,677526	22,512015
Diferencia Mínima Significativa			Valores ordenados de mayor a menor según sus medias				
DMS= t*RAIZ(2*CMEerror/n)		51,444606					

Figura A5. Hoja de cálculo donde se muestran los cálculos estadísticos para conocer si hay tratamientos significativamente diferentes en el experimento.

Fórmulas utilizadas para algunos cálculos mostrados en la hoja de cálculo de la figura A5.

La suma de cuadrados (*Sum c.*) de los tratamientos es igual a $\frac{(\sum(Xi)G)^2}{\sum(g.l)(2)}$. La *Sum c.* del error es igual a $\sum((x)^2)$.

El cuadrado medio del error (*C.M.E*) de los tratamientos es igual a $\frac{Sum\ c.}{g.l.}$. El *C.M.E* del error es igual a $\frac{Sum\ c.}{g.l.}$.

El valor de la F de Fisher experimental (*F exp.*) es igual a $\frac{C.M.E\ (trat.)}{C.M.E\ (error)}$.

El error relativo es igual a $\frac{(t)(DE)}{\sqrt{(n-1)}}$.

Diferencia Mínima Significativa							
DMS= t*RAIZ(2*CMEerror/n)		51,444606					
Comparación de medias							
Tratamiento	EDTA 2	Cit. 2	Ác. Ox. 2	T	Ác. Sal. 2	B	
Muestra	6	16	21	3	11	4	
\bar{X}	1146,0187	1132,7733	129,096824	111,995	85,310321	35,396521	Medias ordenadas de mayor a menor
M1		13,245404	1016,92188	1034,0237	1060,7084	1110,6222	
		M2	1003,67648	1020,7783	1047,463	1097,3768	
			M3	17,101827	43,786503	93,700303	Comparación de medias
	6,16	a		M4	26,684676	76,598476	
	16				M5	49,9138	
	21,3,11	b					
	3,11,	c	Diferencias significativas entre tratamientos marcadas con letras				
	11,4,	d					

Figura A6. Hoja de cálculo donde se muestran las diferencias significativas entre tratamientos en el experimento.

El producto de las restas entre medias mayores al valor de *D.M.S* se marcan en verde (tratamientos significativamente diferentes) y se les asigna una letra distinta, valores menores se dejan en blanco y poseerán la misma letra.

ANEXO IV. Tablas de formación de complejos

Ion metálico	Complejo	Componentes	Fuerza iónica	Log $k_{est.}$	Ref. núm.
Cd^{+2}	CdH_2L	$Cd+H+HL$	0.5	7.9	23, 24
	$CdHL$	$Cd+HL$	0.5	4.0	-
	CdL	$Cd+L$	0.5	11.3	-
Cu^{+2}	CuH_3L	$Cu+2H+HL$	0.5	12.0	26, 27
	$CuHL$	$Cu+HL$	0.5	6.1	-
	CuL	$Cu+L$	0.5	18.0	-
Pb^{+2}	PbH_2L	$Pb+H+HL$	0.5	11.2	28, 29
	$PbHL$	$Pb+HL$	0.5	5.2	-
	PbL	$Pb+L$	0.5	12.3	-
Zn^{+2}	ZnH_2L	$Zn+H+HL$	0.5	8.7	32
	$ZnHL$	$Zn+HL$	0.5	4.5	-
	ZnL	$Zn+L$	0.5	11.4	-

Figura A7. Tabla de constantes de formación de complejos metal-ácido cítrico.

Ion metálico	Complejo	Componentes	Fuerza iónica	Log $k_{est.}$	Ref. núm.
Cd^{+2}	CdL	Cd+L	0.5	2.9	34
	CdL ₂	Cd+2L	0.5	4.7	-
Cu^{+2}	CuHL	Cu+H+L	0.5	6.25	37
	CuL	Cu+L	0.5	4.5	-
	CuL ₂	Cu+2L	0.5	8.9	-
Zn^{+2}	ZnH ₂ L ₂	Zn+2H+2L	0.5	10.8	36
	ZnHL	Zn+H+L	0.5	5.6	-
	ZnL	Zn+L	0.5	3.7	-
	ZnL ₂	Zn+2L	0.5	6.0	-

Figura A8. Tabla de constantes de formación de complejos metal-ácido oxálico.

Ion metálico	Complejo	Componentes	Fuerza iónica	Log $k_{est.}$	Ref. núm.
Cd^{+2}	CdL	Cd+L	0.1	5.6	56
Cu^{+2}	CuL	Cu+L	0.1	10.6	56
	CuL ₂	Cu+2L	0.1	18.5	-
Zn^{+2}	ZnL	Zn+L	0.1	6.9	56

Figura A9. Tabla de constantes de formación de los complejos metal-ácido salicílico.

Metal / Ligante	IDA		Ác. Picolínico			NTA		
	Log β_1	Log β_2	Log β_1	Log β_2	Log β_3	k_{ML}	$k_{OH/MOHL}$	$K_{L/ML2}$
Cd^{+2}	5.3	9.5	4.6	8.2	10.8	10.1	-	4.4
Cu^{+2}	10.5	16.2	8.0	15.0	-	12.7	4.7	3.6
Pb^{+2}	-	-	4.6	7.9	-	11.8	-	-
Zn^{+2}	7.0	12.2	5.3	9.6	12.9	10.5	-	-

Figura A10. Tablas de constantes de formación de complejos metal con IDA, ácido picolínico y NTA.

Metal / Ligante	CDTA			DTPA				EDTA		
	$k_{H/MHL}$	k_{ML}	$k_{OH/MOHL}$	$k_{H/MHL}$	k_{ML}	$k_{OH/MOHL}$	k_{MM2L}	$k_{H/MHL}$	k_{ML}	$k_{OH/MOHL}$
Cd^{+2}	3.0	19.2	-	3.9	19.0	-	3.0	2.9	16.5	-
Cu^{+2}	3.1	21.3	-	5.0	20.5	-	5.5	3.0	18.8	2.5
Pb^{+2}	2.8	19.7	-	4.5	18.9	3.4	-	2.8	18.0	-
Zn^{+2}	3.0	18.7	-	5.6	18.0	-	4.4	3.0	16.5	-

Figura A11. Tabla de constantes de formación de los complejos metal con CDTA, DTPA y EDTA.

Ion metálico	Fuerza iónica	Log β_1	Log β_2	Log β_3	Log β_4	Ref. núm.
Cd^{+2}	3	4.3	7.7	10.3	12.0	7
Cu^{+2}	0	6.0	-	-	-	15
Pb^{+2}	0.6	6.2	10.3	13.3	-	5
Zn^{+2}	0	4.4	-	14.4	15.5	42,43

Figura A12. Tabla de constantes de formación de los complejos metal-OH.

REFERENCIAS

Aguirre Gómez, A. (1981). *Síntesis y actividad fitohormonal de algunos ácidos fenoxiacéticos en Pelargonium inquinans* (Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.

Ringbom, A. (1979). *Complexation in analytical chemistry*. R.E. Krieger Pub. Co.

Spiegel, M. (2009). *Probabilidad y estadística. Serie Schaum*. MCGRAW-HILL INTERAMERICANA.