

FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN SUELOS CONTAMINADOS USANDO QUELITE (*Amaranthus hybridus* L.) Y MICORRIZAS

H. G. Ortiz-Cano¹; R. Trejo-Calzada¹;
R. D. Valdez-Cepeda^{2,3}; J. G. Arreola-Ávila¹;
A. Flores-Hernández; B. López-Ariza

¹Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo,
Apartado Postal Núm. 8. Carretera Gómez Palacio-Cd. Juárez, km 40. Bermejillo, Durango, C. P. 35230, MÉXICO.
Correo-e: rtrejo@chapingo.uruza.edu.mx (¹Autor responsable)

²Centro Regional Universitario Centro-Norte. Universidad Autónoma Chapingo,
Cruz del Sur Núm. 100, Col. Constelación. Apartado Postal 196, El Orito, Zacatecas, Zacatecas, C. P. 98085, MÉXICO.

³Unidad Académica de Matemáticas. Universidad Autónoma de Zacatecas,
Cuerpo Académico de Sistemas Complejos. Paseo Solidaridad s/n. Zacatecas, Zacatecas, C. P. 98064, MÉXICO.

RESUMEN

Las actividades mineras y metalúrgicas practicadas en la Comarca Lagunera, México han contaminado el suelo, el aire y el agua. El uso de plantas es una de las estrategias para la remediación de suelos contaminados con metales pesados. Sin embargo, son pocos los estudios sobre remediación con plantas de zonas áridas y su asociación con micorrizas. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad extractora de Plomo (Pb) y Cadmio (Cd) del quelite (*Amaranthus hybridus* L.) al adicionar una mezcla de micorrizas arbusculares (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*) al sustrato contaminado con Pb o Cd. Dos experimentos, uno por cada metal, con diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones fueron desarrollados. En el primero se adicionaron tres cantidades de micorrizas (0, 2.5 y 5.0 g·kg⁻¹) en suelos con 300 mg·kg⁻¹ de Pb. En el segundo experimento, las mismas cantidades de micorrizas fueron probadas en suelos contaminados con 15 mg·kg⁻¹ de Cd. Las concentraciones de Pb y Cd en raíz, hoja y tallo a los 65, 95 y 125 días de edad de la planta se determinaron con un espectrofotómetro de absorción atómica. Los resultados indican que la adición de micorrizas incrementó significativamente ($P < 0.05$) la concentración de Pb y Cd en raíz, tallo y hoja de quelite. Las concentraciones de estos metales se incrementaron significativamente conforme la edad de la planta.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: contaminación metálica, metales pesados, fitorremediación, micorrizas, *Amaranthus hybridus*.

PHYTOEXTRACTION OF LEAD AND CADMIUM IN CONTAMINATED SOILS USING PIGWEED (*Amaranthus hybridus* L.) AND MYCORRHIZA

ABSTRACT

Mining and metallurgy activities practiced in the Comarca Lagunera in Mexico have contaminated soil, air and water. The use of plants is one strategy for the remediation of soils contaminated with heavy metals. However, few studies on remediation with plants of arid and semi-arid zones in association with mycorrhizae have been performed. The aim of this study was to evaluate the ability of pigweed (*Amaranthus hybridus* L.) to extract Pb and Cd by adding a mixture of arbuscular mycorrhizae (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*) to the substrate contaminated with Pb or Cd. Two experiments, one for each metal, under the basis of an experimental design with randomized blocks with four replications were carried out. The first experiment considered three doses of mycorrhizae (0, 2.5 and 5.0 g·kg⁻¹) added to the soil contaminated with 300 mg·kg⁻¹ Pb. In the second experiment, we used the same quantities of mycorrhizae added to soil contaminated with 15 mg·kg⁻¹ Cd. The concentration of Pb and Cd in root, leaf and stem at 65, 95 and 125 days of age of the plant were determined with an atomic absorption spectrophotometer. The results indicate that the addition of mycorrhizae significantly increased the concentration of Pb and Cd in root, stem and leaf. The concentrations of Pb and Cd were increased significantly as the age of the plant increases.

ADDITIONAL KEY WORDS: metal pollution, heavy metals, phytoremediation, mycorrhizae, *Amaranthus hybridus*.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados han sido ampliamente utilizados en muchas actividades, tales como la agricultura, la minería, la fundición, la galvanoplastia y el refinado del oro (Rodríguez-Ortíz *et al.*, 2006). Por lo tanto, se han documentado serios problemas asociados a la contaminación de los suelos en estas actividades. La acumulación de metales pesados en las plantas inhibe o activa algunos procesos enzimáticos que afectan su productividad tanto cualitativa como cuantitativamente (Miteva *et al.*, 2001). El plomo (Pb), el arsénico (As) (Codling y Ritchie, 2005), el cadmio (Cd) y el zinc (Zn) (Brown *et al.*, 1994), y otros metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas (Rodríguez-Ortíz *et al.*, 2006) hasta concentrarse en sus tejidos a niveles tóxicos. Tal situación puede ser una posible vía de entrada de estos metales en la cadena alimentaria humana a través del consumo de plantas, directa o indirectamente por los seres humanos (Mortvedt, 1996; Chien *et al.*, 2003). Hay evidencias de que el Pb y Cd han sido la causa de efectos negativos sobre la salud humana, de la mortandad en animales, y la perturbación de los ecosistemas naturales y los agro-ecosistemas. En general, los metales pesados pueden ser potencialmente tóxicos para la salud humana.

Las actividades mineras y metalúrgicas practicadas en la Comarca Lagunera han contaminado el suelo, el aire y el agua de la región con diferentes elementos potencialmente tóxicos como plomo, cadmio, arsénico y zinc. El diagnóstico más reciente en la ciudad de Torreón, Coahuila, en el área donde opera una planta fundidora, indica altos niveles de contaminación. Las concentraciones de plomo se encuentran en un rango de 389 a 8,060 ppm como valores mínimos y máximos a la profundidad de suelo de 0.0254 m. En el aire, la concentración de plomo fue de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. La concentración de plomo en sangre de integrantes de la población de los alrededores de la planta industrial es de 5.30 a $16.40 \mu\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$ de plomo en sangre de niños de uno y dos años de edad (Villalobos *et al.*, 2006).

Los estudios conducidos sobre la contaminación con metales pesados en las inmediaciones de la planta fundidora en la localidad de Bermejillo, Durango, también han mostrado evidencia que indica contaminación del suelo; encontrándose concentraciones de plomo máximas de 1,760 ppm en el suelo a profundidades de 0 a 15 cm (Trejo *et al.*, 2007). Lo que sugiere la implementación de estrategias que auxilien en la disminución de los niveles de dichos metales en el medio ambiente.

Los metales pesados acumulados en el suelo superficial se reducen lentamente mediante la lixiviación, el consumo por las plantas, la erosión y la deflación (Puga *et al.*, 2006). Sin embargo, los niveles de contaminación y su impacto en algunas áreas requieren de alternativas que en periodos relativamente cortos reduzcan los niveles de contaminación por metales pesados y otros contaminantes. De igual forma, es importante que estas estrategias

mantengan las propiedades biológicas y la estructura física del suelo.

Algunas plantas cultivadas y silvestres se han usado como medio en el proceso de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Así, se han encontrado especies con capacidad de hiperacumular dichos contaminantes; también se han probado productos que mejoran el potencial fitoextractor de las plantas en la fitorremediación de suelos contaminados. Sin embargo, son pocos los estudios realizados con plantas adaptadas a las zonas áridas en la fitoextracción de metales pesados; a pesar de que la región árida y semiárida comprende aproximadamente 103 millones de hectárea, es decir el 52 % de la superficie continental de México (Solís, 1996; citado por Sosa *et al.*, 2006). En estas regiones existe un reservorio natural de plantas con un potencial poco estudiado. El uso de plantas de las zonas áridas en asociación con micorrizas, podría ser un auxiliar en la rehabilitación de suelos contaminados. Se ha demostrado ampliamente que las micorrizas arbusculares mitigan el estrés e incrementan el crecimiento de las plantas en sitios fuertemente contaminados con metales pesados, por lo que son una herramienta biotecnológica potencial para la restauración de ecosistemas degradados (Gaur y Adholeya, 2004; Hildebrandt *et al.*, 2006).

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad del quelite (*Amaranthus hybridus* L.) en la fitoextracción de plomo (Pb) y de cadmio (Cd), al adicionar una mezcla de micorrizas arbusculares (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área experimental

Dos experimentos en macetas contaminadas con Pb y Cd se realizaron dentro del invernadero de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, (URUZA-UACH) en Bermejillo, Durango, cuyas coordenadas geográficas $25^{\circ} 53' 31.99''$ latitud norte y $103^{\circ} 36' 11.23''$ longitud oeste, y una altitud de 1,117 m.

Establecimiento de los experimentos

Semillas de plantas silvestres de quelite (*A. hybridus*) se colectaron durante el mes de octubre de 2007 del área que circunda a la comunidad de Bermejillo, Durango, México. Para colectar las semillas, se recogieron infrutescencias que luego se maceraron. Después, las semillas se almacenaron en recipientes de plástico hasta que se usaron para establecer un almácigo durante la tercera semana de mayo de 2008. Las plántulas se colocaron en bolsas de plástico negro (macetas) con 2 kg de suelo, durante la tercera semana de junio de 2008. El suelo superficial (0-30 cm) usado se colectó de manera previa en el área de

Bermejillo, Durango, México. En el Cuadro 1 se aprecian sus principales características. Una vez homogeneizado y deshidratado, el suelo se vertió en 72 macetas (36 de cada experimento).

Ambos experimentos se establecieron al considerar el diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos contemplados se definieron al tomar en cuenta al factor dosis de micorrizas para el cual se empleó el producto comercial PHC HORTIC PLUS®, que contiene la mezcla de micorrizas (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum* y *G. clarum*) en las cantidades de 0, 2.5 y 5 g·kg⁻¹ de suelo; así como al factor tiempo de muestreo en sus niveles de 65, 95 y 125 días de edad de la planta, que coincidieron aproximadamente con la etapa vegetativa, etapa de formación de inflorescencia y etapa de llenado de grano, respectivamente. De esta manera se tuvieron nueve tratamientos en cada experimento (Cuadro 2).

La diferencia entre los dos experimentos consistió en el metal con que se contaminó el suelo contenido en las macetas. En el experimento con Pb, se adicionaron 300 mg·kg⁻¹ de plomo (Pb) a cada una de las 36 macetas; mientras que para el caso del experimento con cadmio (Cd), se aplicaron 15 mg·kg⁻¹ de Cd, también a cada maceta. Las concentraciones de metal empleadas se encuentran por

CUADRO 1. Características físico-químicas de suelo superficial usado en el experimento de quelite (*Amaranthus hybridus* L.).

Característica	Valor	Interpretación
pH	8.2	Moderadamente básico
Conductividad eléctrica (dS·m ⁻¹)	2.0	No salino
Calcio soluble (Ca ⁺² meq·litro ⁻¹)	4.0	Bajo
Magnesio soluble (Mg ⁺² meq·litro ⁻¹)	7.0	Medio
Sodio soluble (Na ⁺¹ meq·litro ⁻¹)	7.0	Normal
Potasio soluble (K ⁺¹ meq·litro ⁻¹)	2.1	Bajo
Porcentaje de sodio intercambiable (PSI, %)	5.36	Normal
Carbonatos totales (CaCO ₃ , %)	13.0	Alto
Materia orgánica (%)	2.3	Medio
Nitrógeno disponible (N-NO ₃ , mg·kg ⁻¹)	16.3	Bajo
Fósforo disponible (P, mg·kg ⁻¹)	12.0	Bajo
Potasio disponible (K, mg·kg ⁻¹)	401	Alto
Relación de Adsorción de Sodio (%)	2.99	Normal
C (%)	1.33	Relación C/N
N total (%)	0.11	Ligeramente alta
Arena (%)	45.88	
Limo (%)	34.0	Suelo franco
Arcilla (%)	20.1	
Pb total (ppm)	22.9	Niveles permisibles
Cd total (ppm)	0.102	Niveles permisibles

CUADRO 2. Factores y tratamientos en dos experimentos de fitoextracción de plomo y cadmio con *A. hybridus* y micorrizas.

Experimento	Metal pesado (mg·kg ⁻¹ suelo)	Dosis de micorrizas (g·kg ⁻¹ de suelo)	Tiempo de muestreo (DDS)
1	Pb (300)	0.0	65
		2.5	95
		5.0	125
2	Cd (15)	0.0	65
		2.5	95
		5.0	125

arriba de las concentraciones consideradas como tóxicas o perjudiciales para los ecosistemas. La incorporación de las fuentes contaminantes Pb(NO₃)₂ o Cl₂Cd, así como de las micorrizas se realizó durante la primer semana de julio de 2008 a los 50 días de edad de la planta. Las micorrizas se distribuyeron en seis sitios alrededor del tallo a una distancia de entre 1 y 2 cm, a una profundidad de 5 a 10 cm.

Los riegos se aplicaron cada tres días mediante la aplicación de un litro de agua por maceta, cantidad suficiente para evitar que las plantas padecieran estrés hídrico.

Variables de estudio

Las variables de estudio fueron el porcentaje de colonización micorrízica y la concentración de metal pesado en raíz, tallo y hoja. En ambos experimentos se realizaron tres muestreos a través del tiempo a los 65, 95 y 125 días de edad de la planta para coleccionar muestras de hojas, de tallo y de raíz por duplicado. Muestras de raíz se procesaron para estimar el porcentaje de colonización micorrízica. Cada muestra consistió de 200 mg de raicillas por maceta, mismas que se deshidrataron en estufa a 70 °C. Posteriormente fueron teñidas de acuerdo con la metodología de Phillips y Hayman (1970). Las raicillas se cubrieron con KOH al 10 % durante 30 min y se incubaron a temperatura ambiente por 15 min. La tinción se realizó con azul de tripano al 5 % (azul de tripano a razón de 50 mg·litro⁻¹, preparado con 250 ml de agua destilada, 250 ml de ácido acético y 500 ml de glicerol). Después, las raicillas se lavaron con agua corriente y se mantuvieron en glicerol durante 16 horas hasta que se aclararon.

El porcentaje de colonización micorrízica se estimó mediante la técnica de interceptos (Sieverding, 1983), donde las raicillas teñidas se colocaron al azar sobre una placa petri plástica con cuadrícula con líneas separadas 0.5 pulgadas. Se consideró como intercepto cada vez que una raicilla pasó por encima de una línea de evaluación y dos cuando una raicilla coincidió sobre la línea o pasó dos veces sobre ella. Al considerar el número de interceptos encontrados en cada uno de los seis niveles de evaluación

contemplados, se calculó el porcentaje de colonización. Cabe señalar que las observaciones se hicieron al usar un microscopio (Leica CME), con adaptador para cámara de video y fotografía, a 10x y 40x. La cámara digital para video y fotografía usada es marca Samsung, modelo Digital Color SCC-131.

Las muestras de hojas, tallo y raíz de plantas de 65, 95 y 125 días de edad se lavaron con agua destilada y se deshidrataron en estufa a 75 °C hasta peso constante, el cual se alcanzó a las 48 horas. Posteriormente, se determinaron las concentraciones de Pb y Cd en hoja, tallo y raíz. Para ello, las muestras se molieron en un mortero de porcelana. Después, 0.5 g de cada muestra se colocaron en matraces de 250 ml. Luego se digirieron al agregar 10 ml de una mezcla de ácido nítrico (HNO₃) y ácido perclórico (HClO₄) a una proporción 3:2 v/v. Las muestras digeridas se colocaron en una plancha de calentamiento a 100 °C hasta clarificación. Después se filtraron con papel Whatman Núm. 41. El filtrado se llevó a un volumen de aforación de 100 ml con agua tri-distilada en matraces de aforación tipo A de 100 ml. Las determinaciones de Pb y Cd se hicieron con un espectrofotómetro de absorción atómica (AA Analyst 2200 Perkin-Elmer). Cada muestra se analizó por triplicado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete de diseños experimentales FA-UANL, Versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994). Para la creación de las figuras se utilizó el programa Statistica, kernel release 5.5 (Stat Soft Inc., 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento con plomo (Pb)

Colonización de raíces con micorrizas

En la Figura 1 se aprecia que la colonización en las raíces de las plantas que crecieron en las condiciones de los tratamientos sin adición de micorrizas fue significativamente ($P < 0.05$) menor que la que presentaron las plantas que crecieron en las macetas con suelo inoculado 2.5 y 5 g·kg⁻¹ de suelo, cuyas características se aprecian en el Cuadro 1. Esto indica afinidad entre el quelite (*A. hybridus*) y las especies de hongos del complejo de micorrizas (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*) usado. La colonización detectada en raíces de plantas sin adición de micorrizas puede atribuirse a que actuaron especies de hongos micorrízicos arbusculares nativos, tal y como fue reportado por Baum *et al.* (2006) y Wang *et al.* (2007) en sus experiencias con plantas de sauce y maíz, respectivamente.

En la Figura 1 se puede apreciar una tendencia general de incremento de colonización de micorrizas en las raíces de *A. hybridus* conforme pasó el tiempo desde que se

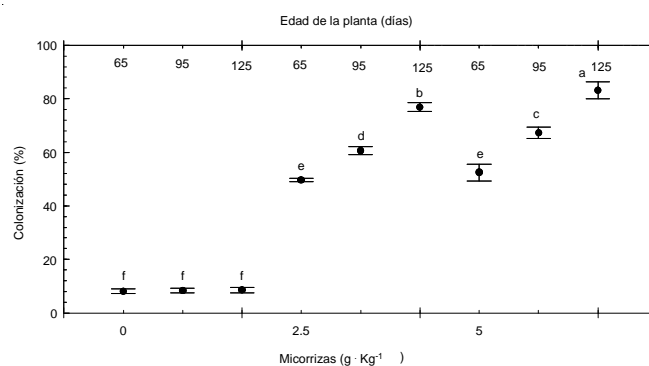


FIGURA 1. Rangos de colonización (%) de micorrizas (media \pm error estándar de estimación, $n = 4$) en plantas de quelite (*Amaranthus hybridus* L.) en suelo contaminado con 300 mg·kg⁻¹ de plomo. Medias con letras diferentes indican colonizaciones (%) con diferencias mínimas significativas ($P \leq 0.05$).

incorporaron micorrizas al sustrato (de 50 hasta 125 días de edad de la planta). Los dos tratamientos con adición de micorrizas produjeron porcentajes de colonización significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) entre ellos, respecto al tiempo; y también fueron diferentes en comparación con los resultados asociados al testigo (sin adición de micorrizas). Inclusive, las diferencias son mayores conforme el tiempo de colonización es también mayor. El tratamiento con micorrizas de 5 g·kg⁻¹ presentó el máximo porcentaje de colonización (83 %) a los 125 días de edad de la planta (i.e. 75 días después de la inoculación).

El incremento de colonización micorrízica aparentemente constante a través del tiempo puede deberse a que se desarrollaron en una rizósfera propia para una recolonización sostenida (Sawers *et al.*, 2008) de los 65 a los 125 días de edad de la planta (en las condiciones del sustrato contaminado con Pb (300 mg·kg⁻¹ suelo) y ambas dosis de inoculación (2.5 y 5 g·kg⁻¹ de micorrizas), a pesar de que los arbusculos son estructuras de vida corta y empiezan a senescer después de 4-10 días de actividad (Strack *et al.*, 2003).

Concentración de Pb

En la Figura 2 se aprecia que la concentración de Pb en hoja, tallo y raíz de plantas de quelite (*A. hybridus* L.) tendió a incrementarse conforme aumentó su edad, cuando crecieron y se desarrollaron en macetas con suelo contaminado con 300 mg·kg⁻¹ de Pb, con y sin la adición de micorrizas. Ello significa que esta especie tiene capacidad extractora de Pb. Este resultado coincide con lo reportado por Puschenreiter *et al.* (2001).

También, se pudo observar la capacidad del quelite de concentrar más Pb en sus tejidos conforme se incrementa la adición de micorrizas al sustrato en el rango de 0 a 5 g·kg⁻¹ de suelo (Figura 2). Los resultados coinciden con lo reportado por Puschenreiter *et al.* (2001) y Khan *et al.* (2000),

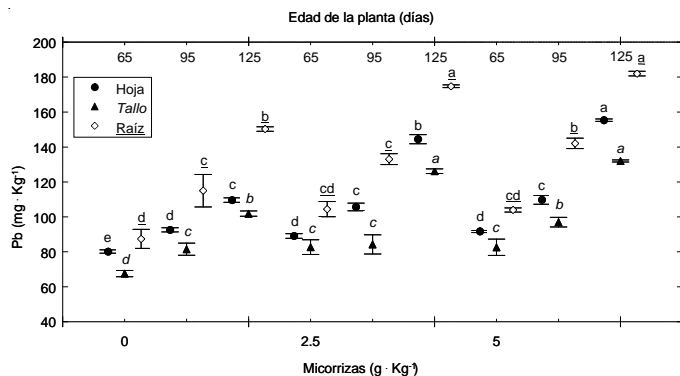


FIGURA 2. Rangos de concentración de Pb (media \pm error estándar de estimación, $n = 4$) en plantas de quelite (*Amaranthus hybridus* L.) en suelo contaminado con $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de plomo. Medias con letras diferentes indican concentraciones con diferencias mínimas significativas ($P \leq 0.05$). Los rangos están desfasados para evitar traslapes.

en el sentido de que es preciso, además de seleccionar la especie vegetal adecuada, el manipular la rizósfera a fin de mejorar la absorción de metales pesados durante el proceso de desarrollo de tecnologías de fitoextracción. En el presente caso, la manipulación del sustrato se realizó mediante la incorporación de micorrizas. Tal práctica permitió que las plantas de quelite absorbieran o metabolizaran el Pb o que dicho metal se acumulara dentro de los tejidos hoja, tallo y raíz, o bien, que los microbios en la rizósfera promovieran su movilización a los tejidos radiculares y subsecuentemente su translocación (Puschenreiter *et al.*, 2001). Esto contradice lo mencionado por Martin y Ruby (2004) sobre la acumulación de metal durante el proceso de fitorremediación, pues según ellos se limita únicamente a los tejidos de la raíz.

El efecto de las micorrizas sobre la fitoextracción de metales pesados ha sido poco investigado (Mahony, 2005; Baum *et al.*, 2006). Giasson *et al.* (2006) encontraron una baja capacidad fitoextractora de Pb en experimentos de pastos con la adición de micorrizas arbusculares. Por el contrario, la presente experiencia demuestra que las micorrizas afectaron positivamente la transferencia de Pb del suelo a las plantas de quelite, conforme se incrementó su adición de 0 a $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ suelo ligeramente básico, de textura franca y contaminado con $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Pb (Figura 2).

Al tomar en cuenta el sustrato sin adición de micorrizas, el tallo tiene menor capacidad de concentrar Pb que la raíz y la hoja, lo cual se manifiesta más conforme se incrementa la edad de la planta de *A. hybridus* (Figura 2). Asimismo, la raíz de quelite presenta mayor capacidad de concentrar Pb que la hoja, resultados que coincide con lo observado por Kadukova *et al.* (2006) en el sentido de la capacidad de concentrar más Pb en los tejidos de la raíz que en la hoja en plantas de *Nerium oleander*, en particular cuando la planta es madura (125 días de edad). Ello es explicado, en parte, porque la absorción de Pb por las plantas

es afectada de manera frecuente por la difusión lenta de este elemento en el suelo, razón por la cual la raíz lleva cierta ventaja sobre el tallo y la hoja en especial en edad temprana. Por lo tanto, las plantas de quelite presentaron significativamente ($P \leq 0.05$) mayores concentraciones de Pb, en los tres órganos, en su etapa de madurez (125 días de edad) que en sus etapas jóvenes (65 y 95 días de edad).

Los resultados de la edad de la planta en la fitoextracción de Pb, concuerdan con lo estudiado por Mensah *et al.* (2008) quienes reportaron que la concentración de Pb en algunos cultivos se incrementa durante su periodo de crecimiento. En este contexto, estudios como el realizado por Grubor (2008) indican una relación de la edad de la planta con la tasa de translocación de plomo en plantas de *Sedum spectabile* y *Urtica dioica*.

Experimento con cadmio (Cd)

Colonización de raíces con micorrizas

La mayoría de las diferencias de colonización entre tratamientos por órgano, al considerar la misma edad, fueron estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$; Figura 3). La máxima colonización fue observada a los 125 días de edad de la planta por efecto de las dos dosis de micorrizas. De manera clara y general, la colonización se incrementó significativamente conforme al tiempo (65, 95 y 125 días) por efecto de los tratamientos que involucraron inoculación micorrizica. En el caso de los tratamientos con $2.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, a los 65 y 95 días en el primer caso y a los 65 días de edad de la planta en el segundo caso, las diferencias fueron no significativas (Figura 3). Esto sugiere que el incremento significativo de colonización, cuando se aplicaron $2.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, se manifestó en el lapso de 65 a 125 días de edad de la planta.

Para el caso de la adición de $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de micorrizas, el porcentaje máximo de colonización corresponde a 125 días de edad de la planta, en este caso, las diferencias

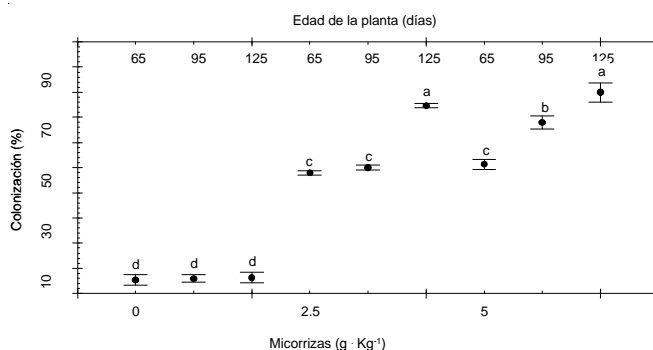


FIGURA 3. Rangos de colonización de micorrizas (% , media \pm error estándar de estimación, $n = 4$) en plantas de quelite (*Amaranthus hybridus* L.) en suelos contaminados con $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Cd. Medias con letras diferentes indican colonizaciones (%) con diferencias mínimas significativas ($P \leq 0.05$).

entre fechas de muestreo (i.e. edad de la planta) fueron significativas. Este resultado coincide con lo reportado por González *et al.* (2004) y Sánchez *et al.* (2004) en el sentido de que las especies de micorrizas arbusculares (*Gigaspora rosea*, *Glomus mossae*, *G. caledonium* y *G. clareideum*) se vuelven más tolerantes a As, Cu, Cd, Pb y Mn en sustratos contaminados conforme pasa el tiempo.

Concentración de Cd

El quelite presentó una tendencia general a concentrar mayor nivel de Cd conforme se incrementó la edad de la planta, cuando no se adicionaron hongos al sustrato (Figura 4). Esta tendencia puede estar relacionada con la formación de complejos bioquímicos durante el metabolismo en *A. hybridus*. Esto último puede asociarse a que el Cd es un metal que puede desplazar otros iones metálicos e incorporarse rápidamente a los diferentes tejidos de la planta (Hall, 2002)

Es apreciable la habilidad del quelite de concentrar más Cd en sus tejidos conforme se incrementa la adición de micorrizas al sustrato en el rango de 0 a 5 g·kg⁻¹ de suelo, aunque las diferencias son no significativas ($P \leq 0.05$) al considerar las edades mayores (95 y 125 días) en hoja y las menores (65 y 95 días) en tallo y raíz (Figura 4). Los resultados sugieren que los efectos fitoextractores de Cd se manifiestan de manera importante a los 125 días de edad de la planta (75 días después de la inoculación) de quelite en simbiosis con micorrizas, en particular en raíz.

En general, los resultados coinciden con lo reportado por Puschenreiter *et al.* (2001) en el sentido de que es preciso, además de seleccionar la especie adecuada, el manipular la rizósfera a fin de mejorar la absorción de metales pesados durante el proceso de desarrollo de tecnologías de fitoextracción. En el presente caso, la manipulación del sustrato se realizó mediante la incorporación de micorrizas. Quizá, tal práctica permitió que las plantas de quelite absorbieran o metabolizaran el Cd en

compuestos no tóxicos dentro de sus tejidos hoja, tallo y raíz, o bien, que soportaran su degradación por los microbios en la rizósfera (Puschenreiter *et al.*, 2001).

Aunque el efecto de las micorrizas sobre la fitoextracción de metales pesados ha sido poco investigado (Mahony, 2005; Baum *et al.*, 2006), la presente experiencia ha demostrado que las micorrizas afectaron positivamente la transferencia de Cd del suelo a las plantas de quelite, conforme se incrementó la adición de 0 a 5 g·kg⁻¹ de suelo ligeramente básico de textura franca contaminado con Cd a razón de 15 mg·kg⁻¹ de suelo.

En particular, al considerar el sustrato sin adición de micorrizas, la capacidad de concentrar Cd en los tejidos de *A. hybridus* presentan una tendencia de incremento conforme transcurrió el tiempo, lo cual sugiere que esta especie vegetal tiene la capacidad de absorber el metal sin la asociación con micorrizas o bien que pudo haber establecido asociaciones con hongos micorrízicos nativos. La raíz y el tallo (a los 65 y 95 días de edad de la planta) no presentaron un incremento significativo ($P < 0.05$) de la concentración de Cd a diferencia de la hoja, en los casos de no adición de micorrizas y la adición de 2.5 g·kg⁻¹ de micorrizas al sustrato. En los tres tejidos, la máxima concentración de Cd se manifestó asociada a la mayor edad de la planta de *A. hybridus* (125 días de edad). Asimismo, la raíz de quelite presenta mayor capacidad de concentrar Cd que la hoja, en particular cuando la planta es madura (125 días de edad). Sin embargo, es importante resaltar que el comportamiento de la concentración de Cd en hoja, por efecto de las dosis bajas de micorrizas, es de incremento quasi-lineal conforme aumenta la edad de la planta, a diferencia del comportamiento asociado a la raíz y el tallo.

Además, la colonización micorrízica asociada a ambos casos de inoculación con el complejo usado refiere cierta asincronía, considerada como el crecimiento asociado de las micorrizas con el de la planta a través del tiempo, al considerar el comportamiento de la concentración de Cd en los tres órganos evaluados (Figura 4), con la excepción del caso de Cd en hoja por efecto de la dosis de 2.5 g·kg⁻¹ de micorrizas.

CONCLUSIONES

La planta de *A. hybridus* L. tiene la capacidad de concentrar en sus tejidos plomo y cadmio al crecer en suelos contaminados conforme aumenta la edad de la planta independientemente de la agregación de micorrizas (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*), lo que hace que esta especie represente un potencial para la remediación de suelos contaminados con esos metales pesados.

La adición de micorrizas arbusculares (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*)

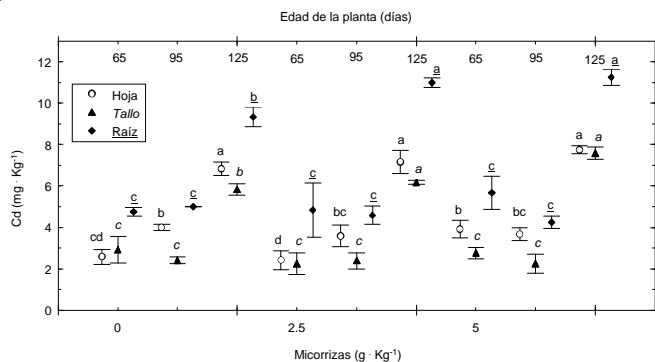


FIGURA 4. Rangos de concentración de Cd (media \pm error estándar de estimación, $n = 4$) en plantas de quelite (*Amaranthus hybridus* L.) en suelo contaminado con 15 mg·kg⁻¹ de Cd. Medias con letras diferentes indican concentraciones con diferencias mínimas significativas ($P \leq 0.05$). Los rangos están desfasados para evitar traslapes.

en suelo ligeramente básico y de textura franca contaminado mejoró la capacidad fitoextractora de plomo en plantas de *A. hybridus*, por lo que la adición de micorrizas pudiera ser una práctica agronómica importante al emplear *A. hybridus* en planes de remediación de suelos contaminados.

La edad de la planta es un factor importante a considerar en el proceso de fitoextracción de plomo y cadmio cuando se usa *A. hybridus* en simbiosis con micorrizas. Existe una correlación positiva entre la edad de la planta y la concentración de esos metales pesados en sus tejidos.

Los hongos utilizados en este estudio (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*) presentaron afinidad con las raíces de las plantas de *A. hybridus*, pues se asociaron en simbiosis. Existe una asociación positiva y significativa entre el porcentaje de colonización y la concentración de Pb y Cd en los tejidos de raíz, tallo y hoja. Así se mejoró la colonización micorrízica y la capacidad extractora de Pb y Cd conforme se incrementó la edad de la planta de *A. hybridus*.

La combinación de tecnologías como es el caso de la rizoremediación y fitoextracción de metales pesados es una estrategia que puede ser usada como auxiliar en la descontaminación de ligeramente básicos de textura franca contaminados con Pb y Cd. Los metales pueden ser estabilizados en *A. hybridus* y esta especie vegetal se puede cosechar y confinar, evitando que los metales pesados se encuentren expuestos a la acción de factores ambientales como precipitación y viento y se dispersen en áreas en que la población humana sea potencialmente dañada.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se llevó a cabo gracias al apoyo financiero del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCYTED) a través de FOMIX-Durango, así como del Programa de Investigación en Recursos Bióticos de Zonas Áridas (REBIZA) de la Universidad Autónoma Chapingo.

LITERATURA CITADA

- BAUM, C.; HRYKIEWICZ, K.; LEINWEBER, P.; MEIBNER, R. 2006. Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix x dasyclados*). *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 169: 516-522.
- BROWN, S. L.; CHANEY, R. L.; ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. 1994. Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and bladder campion for zinc and cadmium contaminated soil. *J. Environ. Qual.* 23: 1151-1157.
- CHIEN, S. H.; CARMONA, G.; PROCHNOW, L. I.; AUSTIN, E. R. 2003. Cadmium availability from granulated and bulk-blended phospho-potassium fertilizers. *J. Environ. Qual.* 32: 1911-1914.
- CODLING, E. E.; RITCHIE, J. C. 2005. Eastern gamagrass uptake of lead and arsenic from lead arsenate contaminated soil amended with lime and phosphorus. *Soil Sci.* 170 (6): 413- 423.
- GAUR, A.; ADHOLEYA, A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* 86(4):528-534.
- GIASSON, P.; JAOUICH, A.; CAYER, P.; GAGNÉ, S.; MOUTOGLIS, P.; MASSICOTTE, L. 2006. Enhanced phytoremediation: A study of mycorrhizoremediation of heavy metal-contaminated soil. *Remediation Journal* 17(1): 97-110.
- GONZÁLEZ, C. M. C.; CARRILLO, G. R.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ. Pollution* 130: 317-323.
- GRUBOR, M. 2008. Lead uptake, tolerance, and accumulation exhibited by the plants *Urtica dioica* and *Sedum spectabile* in contaminated soil without additives. *Arch. Biol.Sci., Belgrade.* 6 (2): 239-244.
- HALL, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53(366): 1-11.
- HILDEBRANDT, U.; REGVAR, M.; BOTHE, H. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 68(1): 139-146.
- KADUKOVA, J.; MANOUSAKI, E.; KALOGERAKIS, N. 2006. Lead and cadmium accumulation from contaminated soils by *Neurium Oleander*. *Acta Metallurgica Slovaca* 12: 181-187.
- KHAN, A. G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T. M.; KHOO, C. S.; HAYES, W. J. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41: 197-207.
- MAHONY, C. P. 2005. Effects of native ectomycorrhizal fungi on aspen seedlings in greenhouse studies: Inoculation methods, fertilizer regimes, and plant uptake of selected elements in smelter-impacted soils. Master Thesis. Montana State University. Bozeman, MO, USA. 233 p.
- MARTIN, T. A.; RUBY, M. V. 2004. Review of in situ remediation technologies for lead, zinc, and cadmium in soil. *Remediation Journal* 14(3): 35-53.
- MENSAH, E.; ALLEN, H. E.; SHOJI, R.; ODAI, S. N.; KYEI-BAFFOUR, N.; OFORI, E.; MEZLER, D. 2008. Cadmium (Cd) and Lead (Pb) concentrations effects on yields of some vegetables due to uptake from irrigation water in Ghana. *International Journal of Agricultural Research* 3(4): 243-251.
- MITEVA, E.; MANEVA, S.; HRISTOVA, D.; BOJINOVA, P. 2001. Heavy metal accumulation in virus-infected tomatoes. *J. Phytopatol.* 149: 179-184.
- MORTVEDT, J. J. 1996. Heavy metal contaminants in inorganic and organic fertilizers. *Fert. Res.* 43: 55-61.
- OLIVARES-SAENZ, E. 1994. Paquete de diseños experimentales FA-UANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín. N. L., México.
- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- PUGA, S.; SOSA, M.; LEBGUE, T.; QUINTANA, C.; CAMPOS, A. 2006. Contaminación por metales pesados en el suelo provocado por la industria minera. *Ecología Aplicada* 5(1-2): 149-155.
- PUSCHENREITER, M.; STOGER, G.; LOMBI, E.; HORAK, O.; WENZEL, W. 2001. Phytoextraction of heavy metal contaminated soil with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulfate. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164: 615-621.
- RODRÍGUEZ-ORTÍZ, J. C.; VALDEZ-CEPEDA, R. D.; LARA-MIRELES, J.

- L.; RODRÍGUEZ-FUENTES, H.; VÁZQUEZ-ALVARADO, R. E.; MAGALLANES-QUINTANAR, R.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, J. L. 2006. Soil nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cd and Pb by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Bioremediation Journal* 10(3): 105-114.
- SÁNCHEZ-VIVEROS, G.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; MARTÍNEZ-GARZA, Á.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C. 2004. Tolerancia adaptativa de hongos micorrízicos arbusculares al crecer en sustratos contaminados con As y Cu. *Rev. Internacional de Contaminación Ambiental* 20 (4): 147-158.
- SAWERS, R. J. H.; YANG, S. Y.; GUTJAHN, C.; PASZKOWSKI, U. 2008. The molecular components of nutrient exchange in arbuscular mycorrhizal interactions. pp. 37-59. *In: Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. SIDDIQUI, Z.A.; AKHTAR, M.S.; FUTAI, K. (Eds.). Springer Science + Business Media B.V. The Netherlands.
- SIEVERDING, E. 1983. Manual de métodos para la cuantificación de la micorriza vesículo-arbuscular. CIAT, Cali, Colombia.
- SOSA, M.; GALARZA, J. L.; LEBGUE, T.; SOTO, R.; PUGA, S. 2006. Clasificación de las comunidades vegetales en la región árida del estado de chihuahua. *Ecología Aplicada* 5(1-2): 53-59.
- STATSOFT, INC. 2000. STATISTICA for Windows (Computer program manual). Tulsa, OK 74104.
- STRACK, D.; FESTER, T.; HAUSE, B.; SCHIELEMANN, W.; WALTER, M. H. 2003. Arbuscular mycorrhiza: Biological, chemical, and molecular aspects. *J. Chem. Ecol.* 29: 1955-1979.
- TREJO-CALZADA, R., GARCÍA, N. C.; VALDEZ-CEPEDA, R. D.; FLORES-HERNÁNDEZ, A.; ARREOLA-ÁVILA, J. G. 2007. Análisis de la variación espacial de plomo en suelos del área de Bermejillo, Dgo. *Memorias del Congreso de la Asociación Mexicana de Ingeniería Agrícola*. Bermejillo, Dgo., México. pp.120-129.
- VILLALOBOS, J. A.; VALDEZ, P. F.; GARCÍA, V. G.; ALONSO, C. J. 2006. Predicción del riesgo a la salud infantil en una zona contaminada por plomo. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica* 27(1): 8-15.
- WANG, F. Y.; GUI LIN, X.; YIN, R. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in a naturally contaminated soil. *Int. J. Phytoremediation* 9: 345-353.