
EMERGENCIA Y CRECIMIENTO DE PLANTAS ORNAMENTALES EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE MINA

MARÍA DE LOS ÁNGELES RODRÍGUEZ-ELIZALDE, ADRIANA DELGADO-ALVARADO, MA. DEL CARMEN A. GONZÁLEZ-CHÁVEZ, ROGELIO CARRILLO-GONZÁLEZ, JOSÉ MERCED MEJÍA-MUÑOZ y MATEO VARGAS-HERNÁNDEZ

RESUMEN

Los residuos metálicos de minas son usualmente acumulados en montículos a cielo abierto, donde se mezclan lentamente con el suelo circundante, y por su nivel de toxicidad solo ciertas especies de plantas los pueden colonizar. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de metales pesados (Cu, Zn, Cd, Pb y Mn) contenidos en residuos de minas en la emergencia y desarrollo de *Dahlia x hortorum* Willd. (*dalia*), *Tagetes erecta* L. (*tagetes*) y *Cosmos bipinnatus* Cav. (*cosmos*), con el propósito de evaluar su utilización como plantas fitorremediadoras. Los sustratos empleados consistieron de mezclas de suelo agrícola con residuos en proporciones de 0, 20, 40 y 60% (v/v). Los metales presentes en la mezcla no modificaron significativamente ($\alpha=0,05$) la emer-

gencia de semillas de *dalia*, pero sí la de las semillas de *tagetes* y *cosmos*. *Dalia* presentó mayor tamaño en cotiledones y raíz, materia seca e índice de tolerancia que las otras especies. Los metales disminuyeron significativamente ($\alpha=0,05$) el contenido de clorofila total de las tres especies, las cuales acumularon en sus tejidos altas concentraciones de Cu, Cd, Ni y Pb. Los resultados del trabajo muestran que aún cuando las plántulas presentaron modificaciones fisiológicas y morfológicas, estas especies ornamentales se establecen en sustratos contaminados. Sin embargo, resulta relevante continuar este tipo de experimentos considerando todo el ciclo de vida de estas especies ornamentales para conocer su comportamiento y utilidad en la fitorremediación.

Los metales pesados del suelo provienen de fuentes naturales, pero principalmente de las actividades humanas. En particular, la actividad de explotación de minerales metálicos produce abundantes residuos tóxicos que contienen elevadas concentraciones de diversos metales pesados, los cuales son depositados en espacios abiertos. La extracción de Zn, por ejemplo, produce residuos que contienen Pb, Cd, Cu o As (Ullrich

et al., 1999) dependiendo de los minerales de alta ley extraídos. Esto provoca que se generen sitios con condiciones inhóspitas y con alta peligrosidad para los organismos vivos; así como un paisaje ecológico degradado. El establecimiento de cubiertas vegetales en los residuos tóxicos está fuertemente restringido por los efectos deletéreos en las plantas o en la germinación de las semillas (Peralta *et al.*, 2001; Catanese *et al.*, 2006). Entre las estrategias que se han em-

pleado para extraer o inmovilizar a los metales pesados del ecosistema se tiene a la fitorremediación, en donde se utilizan plantas con mecanismos específicos para disminuir la toxicidad de los contaminantes del ecosistema (Pilon-Smits, 2005). Algunos reportes documentan que las especies vegetales de ciertas familias taxonómicas presentan cualidades para crecer en sitios contaminados (Brooks, 1998). Otros estudios muestran que especialmente algunas especies orna-

PALABRAS CLAVE / *Cosmos bipinnatus* / *Dahlia x hortorum* / Fitorremediación / Metales Pesados / *Tagetes erecta* /

Recibido: 22/07/2009. Modificado: 28/11/2009. Aceptado: 08/12/2009.

María de los Ángeles Rodríguez-Elizalde. Ingeniera Agrónoma, Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México. M.C., Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Técnico académico, UACH, México.

Adriana Delgado-Alvarado. Química Agrícola, Universidad Veracruzana, México. M.C., COLPOS, México. Ph.D., University of Sheffield, RU. Profesora Investigadora, COLPOS, México. Dirección: COLPOS-Campus Puebla. Km 125.5, Carretera México-Puebla. Puebla, México. CP 72130. e-mail: adah@colpos.com

Ma. del Carmen A. González-Chávez. Química Farmacéutica-Bióloga, ENEP-UNAM, México. M.C., COLPOS, México. Ph.D., University of Reading, RU. Profesora Investigadora, COLPOS, Montecillo, México.

Rogelio Carrillo-González. Biólogo, ENEP-UNAM, México. M.C., COLPOS, México. Ph.D., University of Reading, RU. Profesor Investigador, COLPOS, Montecillo, México.

José Merced Mejía-Muñoz. Ingeniero Agrónomo, UACH, México. M.C., COLPOS, México. Profesor Investigador, UACH, México.

Mateo Vargas-Hernández. Ingeniero Agrónomo, UACH, México. M.C. y Doctor en Estadística, COLPOS, México. Profesor Investigador, UACH, México.

mentales son tolerantes a metales pesados y pueden representar una alternativa para recuperar o cubrir con vegetación los sitios contaminados (Caselles *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2004; Seo *et al.*, 2008). Sin embargo, la información generada sobre los efectos de los metales en la emergencia de estas plantas es muy escasa (Peralta *et al.*, 2001).

La familia Asteraceae incluye especies vegetales con gran variación de formas de vida y que se adaptan a diversas condiciones edafológicas y climatológicas. Varias de estas especies son tolerantes a metales pesados y en algunos casos son acumuladoras e hiperacumuladoras (Xiong, 1997; Brooks, 1998). Los estudios sobre estas especies en México son incipientes, por lo que es muy limitado el conocimiento acerca de especies ornamentales originarias del país que se establezcan en suelos contaminados con metales pesados. Díaz-Garduño *et al.* (2005) reportaron que las plantas de *Tagetes micrantha* Cav. (tagetes silvestre) y *Tagetes lunulata* Ort. (cinco llagas o tagetes cimarrón) son parte de la flora pionera establecida en residuos mineros localizados en Temascaltepec, Estado de México y en Zacatecas, respectivamente. La identificación de plantas ornamentales silvestres y semicultivadas mexicanas que presenten tolerancia a metales pesados, permitiría no solo el embellecimiento del entorno ecológico en esos sitios, sino también conocer su habilidad para la extracción o estabilización de los contaminantes en el suelo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la emergencia y el crecimiento de *Cosmos bipinnatus*, *Dahlia x hortorum* y *Tagetes erecta* en sustratos conteniendo diferentes proporciones de residuos mineros, para su posible uso en la fitorremediación de suelos contaminados. Se consideraron Cu, Zn, Cd, Pb y Mn, como los principales contaminantes del residuo de la mina El Bote, Zacatecas, México.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Se utilizaron semillas de *Dahlia x hortorum* Willd. (dalia), *Tagetes erecta* L. (tagetes) y *Cosmos bipinnatus* Cav. (cosmos). Previamente se hicieron

TABLA I
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO Y RESIDUO DE LA MINA "EL BOTE", ZACATECAS, MÉXICO Y LÍMITES PERMISIBLES EN SUELO

	Suelo		Residuo minero			
	Totales	Disponibles	Totales	Disponibles		
pH	6,5		6,2			
Textura	Migajón		Arenosa			
Arena (%)	38,2		92,0			
Arcilla (%)	23,8		1,0			
Limo (%)	38		7,0			
Materia orgánica (%)	0,75		0,38			
P (Olsen mg·kg ⁻¹)	271,5		1221			
Color Musel	10 YR ^{3/4} Pardo amarillento oscuro		5 Y 6/6 Amarillo pálido			
Concentración de metales pesados (mg·kg ⁻¹)						
	Suelo		Residuo minero		Límites permisibles	
	Totales	Disponibles	Totales	Disponibles	US-EPA*	México**
Cu	58	1,0	12313,1	12,6	50-3100	nr
Zn	90	1,3	1449,0	59,9	150-450	300-800
Mn	747	37,0	1499,0	18,4	110-256	nr
Cd	4	0,1	30,0	3,6	20-37	20
Ni	15	0,60	18,9	0,2	4-55	nr
Pb	21	6,1	2061,9	142,0	400-500	100-200

nr: dato no reportado. Fuentes: *US-EPA (2002), **PROFEPA (2000).

pruebas de germinación en las tres especies para conocer la viabilidad de las semillas (datos no mostrados). La germinación de las semillas se realizó en cajas de Petri conteniendo papel filtro y en condiciones de laboratorio, con variaciones naturales de luz y oscuridad.

Condiciones de crecimiento

La siembra se realizó en bandejas de plástico (50×30×9cm) que funcionaron como semilleros. Cada bandeja presentó 100 orificios y cada orificio con la capacidad de contener 15g de sustrato. Se colocaron 2 semillas por orificio, dando un total de 200 semillas a evaluar por tratamiento de cada una de las tres especies ornamentales (600 semillas en total por tratamiento). Los tratamientos fueron las mezclas de residuo minero y suelo agrícola en proporciones de 0, 20, 40 y 60% de residuos (v:v). Debido a las altas concentraciones de diferentes metales presentes en el residuo minero (Tabla I), que superan las concentraciones normales del suelo, no se estableció un tratamiento con 100% de residuo. El tratamiento con 0% de residuo se considero como el

testigo. El suelo agrícola (Kastañozems lúvico) se colectó en el municipio de Zacatecas, México. Los residuos de minas provinieron de la mina "El Bote" ubicada en la ciudad de Guadalupe, Zacatecas, México (22°47'55"N y 102°36'28.8"O, a 2370msnm). La mineralogía predominante del residuo es: acantita, azurita, calcita, galena, cuarzo, pirangita, esfalerita, polibasita y cuprita. Los principales minerales de interés para extracción en esta mina son: Zn, Pb y Ag (Carrillo-González y González-Chávez, 2006). Además, en la zona hay alto contenido de óxidos de Fe, lo cual no es sorprendente por ser el Fe el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre (Lindsay, 1979).

Antes de colocar las semillas para iniciar el proceso de germinación, las mezclas se incubaron durante 47 días a temperatura ambiente, para permitir la estabilización de reacciones de sorción de los metales pesados en la superficie coloidal. Las concentraciones totales y disponibles de metales en las mezclas respectivas se indican en la Tabla II. La concentración de metales pesados en el suelo y en las mezclas de desecho de mina y suelo se determinó por espectroscopia de absorción atómica (Perkin Elmer 3110). Se consideró la concentración total (BS, 1995) y la concentración de la fracción disponible DTPA-TEA-CaCl₂ (Lindsay y Norvell, 1978). Las plántulas crecieron en cámara de crecimiento (Sherer Environmental, modelo CEL 38-15) bajo iluminación continua con lámparas luminiscentes blancas en ciclos de 24h, se estableció un fotoperiodo de 16/8h día/noche donde la densidad de flujo de

TABLA II
CONCENTRACIÓN TOTAL Y DISPONIBLE DE METALES PESADOS EN LOS SUSTRATOS UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO DE EMERGENCIA Y DESARROLLO DE TRES ESPECIES ORNAMENTALES

Tratamiento (% de residuos)	Cu	Zn	Mn	Cd	Ni	Fe	Pb
	(mg·kg ⁻¹)						
Totales (Agua regia; BS, 1995)							
20	72	294	678	7	24	49694	145
40	92	526	588	9	34	50782	255
60	117	712	558	10	38	56284	359
Disponibles (DTPA-TEA-CaCl ₂ ; Lindsay y Norvell, 1978)							
20	1,7	13	22	0,73	0,60	2,6	45
40	1,8	21	12	1,35	0,38	2,6	36
60	1,9	21	16	1,56	0,43	4,0	44

TABLE III
PORCENTAJE DE EMERGENCIA
DE TRES ESPECIES ORNAMENTALES
A DIFERENTES CONCENTRACIONES
DE RESIDUOS DE MINAS

Especie	Tratamiento (% de residuos)	% de emergencia
Dalia	0	100,00 a
	20	97,40 a
	40	92,71 a
	60	88,54 a
	DMS	7,26 ns
Cosmos	0	100,00 a
	20	89,44 b
	40	72,25 c
	60	83,33 cb
	DMS	8,98 *
Tagetes	0	100,00 a
	20	92,50 b
	40	80,63 b
	60	89,38 b
	DMS	6,78 *

Letras distintas en la misma columna y en la misma especie, muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey; $p \leq 0,05$). Análisis estadístico realizado por especie. ns: no significativo, *: significativo ($p \leq 0,05$), DMS: diferencia mínima significativa.

fotones varió de $36 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}/16\text{h}$ a $19 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}/8\text{h}$, con temperatura de día/noche de $25/18^\circ\text{C}$.

Variables evaluadas

Mediciones de crecimiento. Durante un periodo de 7 días se determinó la dinámica y porcentaje de emergencia. A los 17 días después de la siembra, las plantas fueron removidas e inmediatamente divididas en tejidos (cotiledones, hojas, tallo y raíz) para medir la longitud de hojas verdaderas, cotiledones, tallo y raíz. Los tejidos de las plántulas se secaron en estufa a 70°C para evaluar la materia seca.

Determinación de clorofila. El contenido de clorofila se determinó con 100mg de tejido de hojas frescas en extractos de acetona 80% de acuerdo al método espectrofotométrico adaptado por Bruinsma (1963).

Índice de tolerancia de la raíz (ITLR). Este índice se utiliza como un indicador de la toxicidad y se determinó con base en la longitud de la raíz. El ITLR es igual a la longitud de raíz del tratamiento conteniendo metales dividido entre la longitud de raíz del tratamiento testigo, y la cantidad resultante multiplicada por 100 (modificado de Wilkins, 1978).

Determinación del contenido de metales. La concentración de metales pesados se determinó en la planta entera, incluyendo la raíz, por espectroscopia de absorción

atómica mediante el método de Jones y Case (1990) tras previa digestión con H_2O_2 30% y con una mezcla binaria (1:4) con HClO_4 y H_2SO_4 (Westerman, 1990).

Diseño experimental y tratamientos

Se usó un diseño completamente al azar, con 200 semillas como repeticiones para cada especie en cada uno de los cuatro tratamientos. Se realizaron análisis de varianza individuales para cada especie y variable mediante el procedimiento GLM del Statistical Analysis System (SAS, 2004). Se efectuaron análisis combinados y se consideró una estructura factorial completa. Además, se hicieron comparaciones múltiples de medias y se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Resultados

Los residuos de mina y los sustratos mezclados con éstos en sus proporciones de 20 a 60% presentaron altas concentraciones de metales (Tablas I y II). La concentración total de Zn en los residuos, al igual que las de Cu, Mn, Cd y Pb, es superior a la reportada como normal en el suelo, según los límites propuestos por US-EPA (2002) y PROFEPA (2000). Las concentraciones de metales disponibles se incrementaron en función de los tratamientos y son anormales (Tabla I). Además, la mezcla de elementos tóxicos aumenta los efectos negativos por la interacción entre ellos (Guo *et al.*, 2007).

En las especies cosmos y tagetes la emergencia disminuyó significativamente conforme se incrementó la proporción de residuos de minas; en contraste, las semillas de dalia presentaron mayor porcentaje de emergencia que las de tagetes y cosmos a las concentraciones de 20 y 40% de residuos (Tabla III). Con respecto a la dinámica de crecimiento, en dalia no se presentaron diferencias estadísticas durante los siete días de evaluación, mientras que en tagetes y en cosmos solo se detectaron decrementos significativos en el séptimo día (Figura 1).

El largo y ancho de los cotiledones fue significativamente menor en dalia, en los sustratos con 40 y 60% de residuos de minas, respecto al testigo

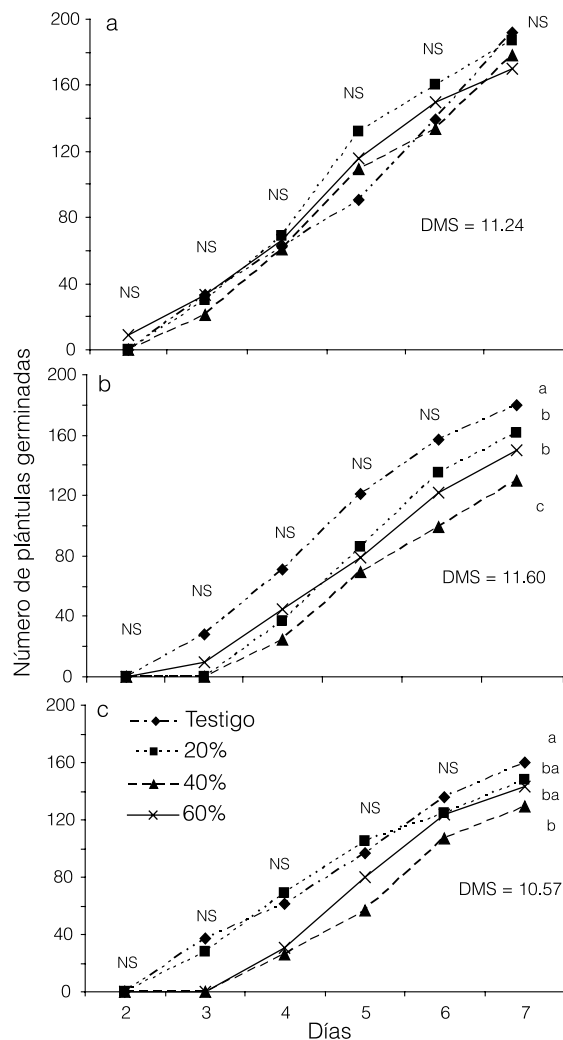


Figura 1. Dinámica de emergencia de a: dalia, b: cosmos y c: tagetes, en relación a la concentración de residuos de minas. Letras distintas al final del ensayo muestran diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0,05$). NS: no significativo (análisis estadístico realizado por fecha de análisis), $n = 200$. DMS: diferencia mínima significativa.

(Figura 2a). En cosmos, el largo de los cotiledones fue estadísticamente menor con 20 y 60% de residuos (Figura 2b), mientras que en tagetes, el largo y ancho fue estadísticamente menor en los tres casos (20, 40 y 60%; Figura 2c). En general, en los tratamientos sin residuos de minas (0%), las tres especies presentaron significativamente mayor tamaño de hojas verdaderas y de cotiledones, y al incrementar la concentración de residuos se observó reducción en el tamaño de ambas estructuras. En dalia y tagetes solo se detectó reducción en la longitud radical en las plantas en el tratamiento con mayor concentración (60%) de residuos de minas, mostrando diferencias significativas respecto al testigo (Tabla IV). En cosmos se detectó reducción en la longitud radical con el tratamiento de 40% de residuos, pero la longitud aumentó en el

tratamiento de 60% de residuos (Tabla IV). En general, dalia presentó mayor longitud radical, seguida de cosmos y tagetes. La longitud del tallo solo fue evaluada en cosmos y tagetes, ya que dalia es una planta hipogea, en la cual el hipocótilo no se desarrolla y los cotiledones permanecen bajo el suelo o ligeramente sobre éste. La longitud de tallo de las plantas de cosmos y tagetes presentó diferentes respuestas a los metales pesados contenidos en los residuos, pues otras variables, como el pH, se mantuvieron sin cambio en los tratamientos, es decir la capacidad amortiguadora del suelo no fue afectada por la mezcla con los residuos.

En cosmos no se detectaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, lo que sugiere que los metales pesados no afectaron esta variable. En contraste, la longitud del tallo de tagetes disminuyó significativamente al incrementar la concentración de residuos, detectándose las longitudes menores en el tratamiento con 60% de residuos (Tabla IV). La acumulación de materia seca total disminuyó significativamente al incrementar la concentración de residuos de minas en las tres especies ornamentales (Tabla IV); sin embargo, cosmos y tagetes presenta-

ron pesos de materia seca de hasta dos veces menores que dalia.

Los valores del índice de tolerancia de longitud de raíz (ITLR) son más altos en los casos que muestran menor toxicidad. El ITLR varió de 75,65 a 98,45 entre las tres especies, siendo dalia la que presentó los valores mayores, en los tratamientos con 20 y 40% de residuos, mostrando incremento en la concentración de metales pesados. En contraste,

los índices más bajos los tuvo tagetes, aunque estadísticamente no fueron diferentes a cosmos (Tabla IV). En dalia el ITLR disminuyó 2, 7 y 15% por la adición de 20, 40 y 60% de residuos, respectivamente, mientras que en cosmos la disminución fue de 13,35; 20,74 y 7,74%. En tagetes la reducción del ITLR fue más marcada y tendió a incrementarse con los mayores porcentajes de residuos (Tabla IV).

La concentración de clorofila a, b, clorofila total y la relación clorofila a/b disminuyó en cosmos y tagetes al incrementar la concentración de residuos. En dalia, la disminución solo se observó en el contenido de clorofila a y clorofila total; sin embargo, los tratamientos con residuos no afectaron de forma significativa el contenido de clorofila b y

la relación de clorofila a/b (Tabla V). Al comparar la concentración entre las tres especies, se aprecia que en tagetes hubo mayor cantidad de clorofila a, respecto a dalia y cosmos (Tabla IV). Cabe mencionar que la presencia de metales pesados no alteró la proporción en la relación de clorofilas a/b en el desarrollo de dalia, mientras que en tagetes y cosmos la relación de clorofila a/b disminuyó por la presencia de metales pesados, mostrando valores <2 (Tabla V).

La concentración de metales en la plántula dependió del tipo de metal y de la especie vegetal (Figura 3). El contenido de Cu en cosmos y tagetes aumentó con la concentración total en el sustrato. En dalia se observó incremento a 20 y 40%, pero a 60% la cantidad absorbida disminuyó. La absorción de Zn en tagetes y dalia aumentó a 20%, pero a 40 y 60% la curva de absorción se hizo asintótica. Cosmos absorbió significativamente más Zn al aumentar la proporción de residuos. En las tres especies, la concentración de Cd

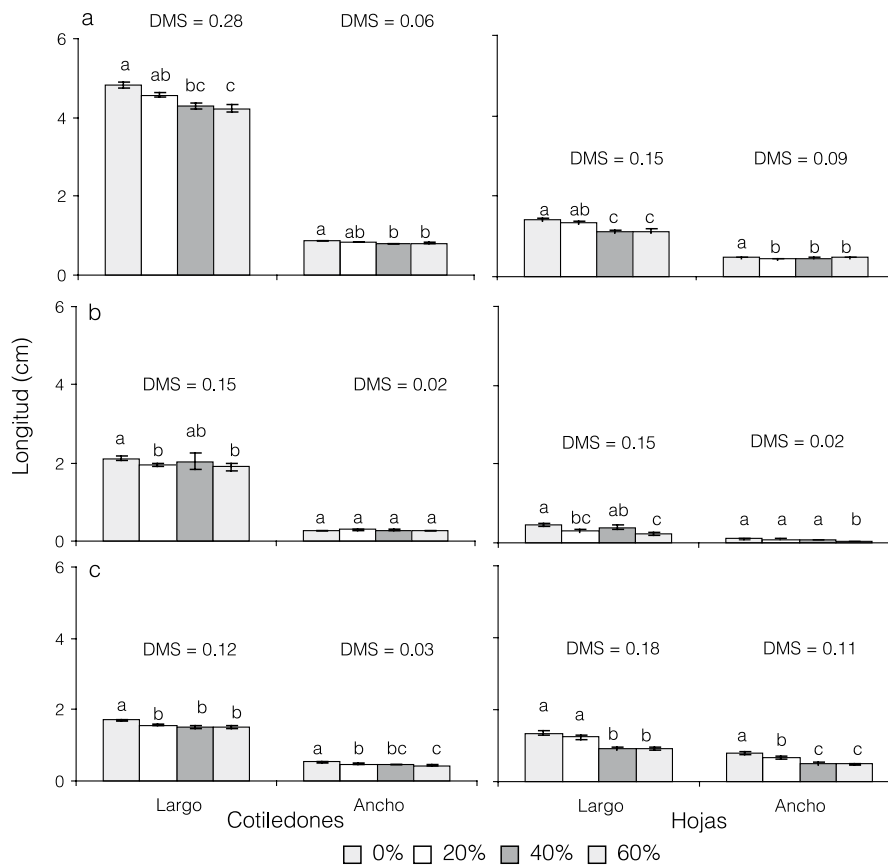


Figura 2. Longitud de cotiledones y hojas en plántulas de a: dalia, b: cosmos y c: tagetes, a diferentes concentraciones de residuos de minas. Análisis estadístico realizado por especie y tejido de la planta. Las barras indican el error estándar (n= 200). Letras distintas indican diferencias significativas según Tukey (p<0.05). DMS: diferencia mínima significativa.

TABLA IV

MATERIA SECA, LONGITUD DE TALLO Y RAÍZ E ÍNDICE DE TOLERANCIA DE LONGITUD DE RAÍZ (ITLR) EN TRES ESPECIES ORNAMENTALES A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE RESIDUOS DE MINAS

Tratamiento (% residuos)	Dalia			Cosmos			Tagetes			
	Longitud (cm) Raíz	Materia seca (mg)	ITLR	Longitud (cm) Raíz	Longitud (cm) Tallo	Materia seca (mg)	ITLR	Longitud (cm) Raíz	Materia seca (mg)	ITLR
0	4,25 a	20,01 a		3,49 a	9,53 a	11,08 a		2,99 a	5,11 a	7,61 a
20	4,19 ab	15,01 ab	98,45 a	3,02 ab	9,67 a	7,20 ab	86,65 ba	2,43 b	4,65 ab	5,34 b
40	3,97 ab	18,28 a	93,10 ba	2,77 b	9,11 a	6,15 b	79,26 b	2,26 b	4,07 bc	4,05 b
60	3,62 b	10,66 b	85,02 b	3,22 ab	9,23 a	6,45 ab	92,26 ba	2,26 b	3,93 c	4,47 b
DMS	0,54 *	6,66 *	12,87 *	0,48 *	0,94 ns	4,86 *	13,94 *	0,41 *	0,68 *	2,07 *

Letras distintas dentro de la misma columna y en la misma especie muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey; p<0,05). Análisis estadístico realizado por especie y por parámetro evaluado. ns: no significativo, *: significativo (p<0,05), DMS: diferencia mínima significativa.

se incrementó al aumentar la proporción de residuos en los sustratos, siendo en tagetes más marcado este efecto. En cosmos y tagetes se observó un aumento en la absorción de Ni directamente proporcional con el incremento en los residuos de minas. En dalia el aumento se observó en los tratamientos de 20 y 40%; sin embargo, con 60% de residuos, se redujo la concentración de Ni en el tejido vegetal. El incremento en la absorción de Pb fue similar en dalia y tagetes en los tres niveles de adición de residuos ensayados. En contraste, en cosmos a 60%, la concentración en la plántula aumentó considerablemente.

Con base en las concentraciones de metales consideradas como normales en plantas, Reeves *et al.* (1995) reportaron valores ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) de 25 para Cu, 400 para Zn y Mn, y 3, 10 y 5 para Cd, Ni y Pb, respectivamente. Por tanto, estas plantas ornamentales acumularon altas concentraciones de Cu, Ni, Pb y Cd. De manera general, se manifiesta que en el tratamiento con mayor concentración de residuos (60%), las tres especies extrajeron entre 10 y 30 veces más Pb, Ni y Cd al comparar con las concentraciones detectadas en las plantas del tratamiento testigo. Al contrastar la absorción de Zn se observó que la concentración en la planta fue $<2\%$ del contenido en el sustrato. El comportamiento de absorción de Mn fue más complejo en comparación con los otros elementos; en dalia se incrementó la concentración a 20% y después se redujo; en tagetes y cosmos la concentración fue inversamente proporcional a la cantidad de residuo aplicada. Aparentemente hubo interacción negativa entre el Mn y la concentración de los elementos Cu, Zn y Cd.

Discusión

Bidwell (1990) menciona que cuando se rompen las cubiertas de la semilla y emerge la plántula se incrementa el me-

TABLA V
PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS (CLOROFILA A, B, TOTAL Y RELACIÓN A/B) EN DALIA, COSMOS Y TAGETES A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE RESIDUOS DE MINAS

Especie	Tratamiento (% de residuos)	Clorofila ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ PF)			
		a	b	Total	a/b
Dalia	0	0,58 a	0,19 a	0,77 a	2,98 a
	20	0,46 b	0,16 a	0,62 b	2,8 a
	40	0,37 c	0,15 a	0,51 c	2,51 a
	60	0,35 d	0,14 a	0,49 c	2,43 a
	DMS	0,01*	0,06 ns	0,96*	0,06 ns
Cosmos	0	0,41 a	0,2 a	0,61 a	2,11 a
	20	0,34 b	0,17 b	0,51 b	2,01 b
	40	0,33 c	0,17 b	0,49 c	1,94 bc
	60	0,3 d	0,16 c	0,46 d	1,93 c
	DMS	0,01 *	0,01 *	0,01 *	0,08 *
Tagetes	0	0,82 a	0,38 a	1,2 a	2,15 a
	20	0,66 b	0,36 ab	1,02 b	1,83 b
	40	0,62 c	0,34 b	0,96 c	1,82 bc
	60	0,53 d	0,33 b	0,86 d	1,59 c
	DMS	0,02*	0,04 *	0,04 *	0,23*

Letras distintas entre columnas y dentro de especies muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey; $p\leq 0,05$). Análisis estadístico realizado por especie y parámetro evaluado. ns: no significativo, *: significativo ($p\leq 0,05$), DMS: diferencia mínima significativa.

tabolismo celular, siendo los tejidos muy susceptibles a condiciones externas (temperatura, luz, agua) que pueden ocasionar daños a las membranas. Los resultados

del presente trabajo mostraron que las semillas de dalia tuvieron mayor emergencia que las otras dos especies. Ello sugiere que la presencia de metales pudo causar mayor daño en las membranas de cosmos y tagetes en comparación con las de dalia, o bien que la capacidad homeostática de dalia ante el estrés por metales fue mayor que en las otras especies. Catanese *et al.* (2006) señalan que en *Opuntia ficus-indica* la emergencia disminuyó al incrementar el contenido de metales en el medio de crecimiento.

En general, se observó que la concentración de metales en los residuos tuvo efecto negativo en el tamaño de los cotiledones y las hojas verdaderas de las tres especies ornamentales en estudio. Estudios en progreso, sin embargo, muestran que aunque estos efectos negativos se observaron en esta primera etapa de crecimiento, estas plantas ornamentales pueden continuar su crecimiento y desarrollo, y completar su ciclo biológico con producción de flores. Shen *et al.* (1998) reportaron que altas concentraciones de Cu y Zn causaron alteraciones en el metabolismo de *Phaseolus aureus* Roxb. (frijol mungo) al reducir el tamaño de hojas y raíces. Al respecto Acevedo *et al.* (2005) observaron que el Cd disminuyó el número y tamaño de hojas, lo que provocó clorosis severa con aparición de manchas necróticas en las láminas de las hojas en *Helianthus annuus* L.

Algunas especies pueden retardar y disminuir el crecimiento radical cuando se exponen a altas concentraciones de metales pesados. En un suelo contaminado, la raíz es el primer órgano de la planta afectado al exponerse directamente con los metales pesados. Carlson *et al.* (1991) encontraron reducciones en la longitud de la raíz en *Sesamum indicum* L. (ajonjolí), *Sinapsis alba* L. (mostaza blanca) y *Lactuca sativa* L. (lechuga) desde 37 hasta 72% con respecto a los testigos. Xiong (1998) reportó reducción de 99% en la longitud de raíz de *Brassica pekinensis* Rupr. (repollo chino) al utilizar una solución de $1000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de Pb.

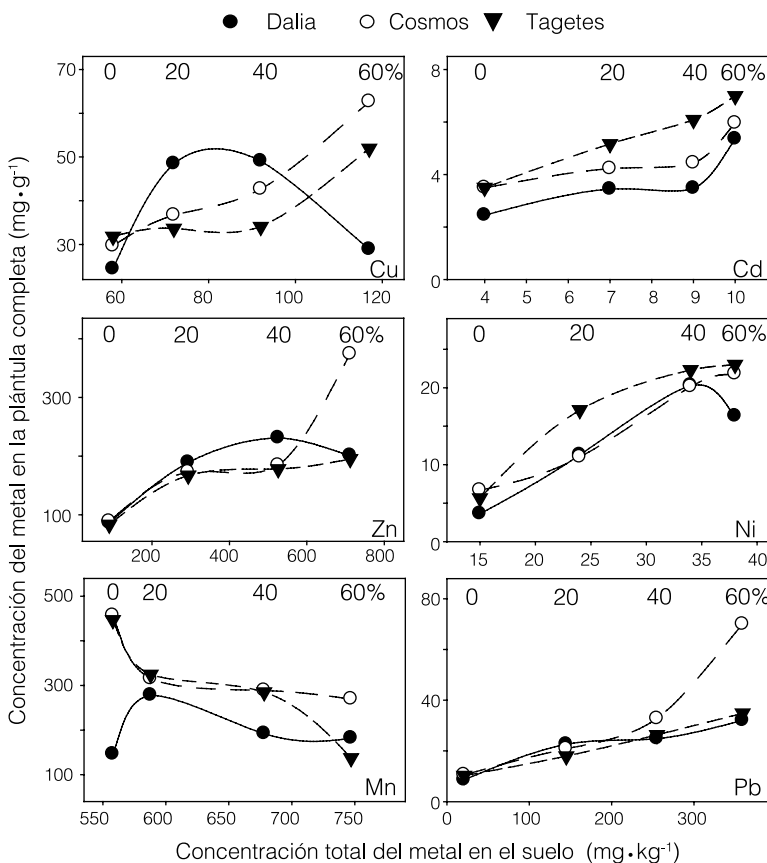


Figura 3. Relación de la concentración de metales en las plántulas de tres ornamentales y su concentración en el suelo.

En el presente trabajo, las tres especies mostraron diferente respuesta a la adición de residuos de mina en la longitud de tallo. En cosmos ésta no se afectó por los diferentes niveles de residuos utilizados; sin embargo, en tagetes la longitud de tallo decreció significativamente con la cantidad de residuos presentes en el sustrato. Panou-Filothou *et al.* (2001) también observaron decrementos en la longitud del tallo y raíz de *Origanum vulgare* L. (orégano) sembrado en suelos contaminados con Cu. La biomasa de las tres especies ornamentales ensayadas respondió diferencialmente al efecto de las dosis de residuos en el sustrato. Por ejemplo, a la concentración de 40% de residuos, la biomasa de cosmos y tagetes disminuyó en 55 y 53%, respectivamente, con respecto al testigo, mientras que en dalia, a la concentración de 60% de residuos, la biomasa disminuyó 50%. La concentración de residuos afectó significativamente la biomasa en tagetes y cosmos, en tanto en dalia solo se observaron diferencias significativas entre el testigo y la concentración de 60% de residuos. Xiong (1998) observó que altas concentraciones de Pb (500 y 1000mg·l⁻¹) no disminuyeron la biomasa total de *B. pkinensis* Rupr. En contraste, en *Brassica rapa* L. (nabo), el peso fresco y la biomasa total disminuyeron en 100 y 45% con respecto al testigo cuando dicha especie creció en suelos contaminados con residuos de minas que contenían (en mg·kg⁻¹) 8,2 de Cd; 255 Mn; 209 Pb; 97 Zn; y 3,1 de Be (Loureiro *et al.*, 2006).

En el presente trabajo se detectó que la adición de residuos al sustrato de crecimiento disminuyó el contenido de clorofila *a* en las tres especies vegetales y de la clorofila *b* en cosmos y tagetes. Este decremento coincide con los resultados de Di Cagno *et al.* (1999), quienes encontraron que Cd²⁺ redujo drásticamente el contenido de clorofilas (*a* y *b*) en plántulas de girasol. Por otra parte, en *Phaseolus vulgaris* L. también se detectaron reducciones en los niveles de clorofila total al incrementar las concentraciones de Cd²⁺ (Somashkaraiah *et al.*, 1992). Es bien conocido que en plantas creciendo en sitios contaminados con metales pesados, el crecimiento de raíces es fuertemente afectado (Wilkins, 1978). A este respecto, particularmente en dalia se observaron los valores mayores de ITRL por la adición de residuos; en contraste, tagetes tuvo los valores más bajos, lo cual sugiere una tolerancia menor. En las plantas de dalia expuestas a 20 y 40% de residuos, la disminución del ITRL no fue tan drástica como en cosmos y tagetes. Sin embargo, las tres especies expuestas a la dosis más alta (60%) presentaron disminución en tolerancia entre 45 y 50%. Peralta *et al.* (2001)

estudiaron la capacidad de semillas de alfalfa para germinar y crecer en medios sólidos conteniendo metales, y reportaron que los niveles de tolerancia de la alfalfa para crecer en suelos contaminados solo permite como máximo 5, 10 y 20mg·kg⁻¹ de Cd, Cu, Cr, Ni y Zn. Los resultados del presente trabajo muestran la capacidad de adaptación de dalia para sobrevivir y desarrollarse en el sustrato con 60% de residuos, conteniendo altas concentraciones de metales pesados (117, 712, 558, 10, 38 y 359mg·kg⁻¹ de Cu, Zn, Mn, Cd, Ni y Pb, respectivamente), lo cual puede asociarse a la capacidad de esta especie de formar estructuras de reserva tales como raíces tuberosas, que podrían relacionarse con la habilidad de almacenar o extraer los elementos tóxicos (Mejía y Mendoza, 1995). Algunos pastos y ornamentales de la familia Asteraceae se adaptan eficientemente en suelos contaminados con metales pesados, debido a que presentan mecanismos eficientes de adaptación (Xiong, 1997).

Baker y Walter (1990) indican que las plantas tienen diferentes respuestas al estrés por efecto de metales pesados; ya que pueden extraerlos, acumularlos o solo indicar su presencia. En este contexto, las tres especies ornamentales en el estado de plántula (17 días después de la siembra) pueden ser consideradas como especies indicadoras, ya que la concentración de metales en la planta aumentó conforme incrementó su concentración en el sustrato. Los resultados muestran que dalia fue la especie que presentó los mayores porcentajes de emergencia, aun cuando se observó disminución en el contenido de clorofila. Las tres especies estudiadas sobrevivieron y se desarrollaron en presencia de metales pesados, a pesar de que las variables morfológicas analizadas disminuyeron; sin embargo, su capacidad de absorción de metales fue diferente. Por ejemplo, cosmos absorbió Pb, Cu y Zn en mayor concentración que las otras dos especies, mientras que tagetes absorbió más Cd. Con respecto a Ni, tagetes y cosmos presentaron similar absorción. La habilidad observada en estas tres especies ornamentales para emerger e iniciar su crecimiento, así como para acumular diferentes metales, permite sugerir su uso para cubrir suelos contaminados, disminuir los riegos ambientales de un suelo libre de vegetación y embellecer el entorno de las zonas mineras. No obstante, experimentos de largo plazo, donde se considere el ciclo de vida completo de las plantas, servirán para conocer su comportamiento y utilidad en la fitorremediación.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación es parte del proyecto SEMARNAT-CONACyT

CO-01-2002-739. M.A.R.E. agradece al CONACYT por la beca de maestría otorgada para sus estudios, así como al M.C. Jaime Cruz Díaz por el apoyo brindado en los análisis químicos.

REFERENCIAS

- Acevedo H, Gómez C, Pinto G, Fernández J, Loureiro S, Santos C (2005) Cadmium effects on sunflower growth and photosynthesis. *J. Plant. Nutr.* 28: 2211-2220.
- Baker JMA, Walter DPL (1990) Metal uptake and accumulation. En Shaw AI (Ed.) *Heavy Metals Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. CRC. Boca Raton, FL, EEUU. pp. 156-174.
- Bidwell RGS (1990) *Fisiología Vegetal*. Traducido al español de GG Cano, M Rojas Garcidueñas. AGT. México. 432 pp.
- Brooks RR (1998) *Plant that Hyperaccumulate Heavy Metals. Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining*. CABI. Londres, RU. 380 pp.
- Bruinsma J (1963) The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. *Photochem. Photobiol.* 2: 241-249.
- BS (1995) Soil quality. Extraction of trace elements soluble in aqua regia. British Standard. Part 3. *Chemical Methods*. Section 3.9. Londres, RU. 8 pp.
- Carrillo González R, González Chávez MC (2006) Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Env. Pollut.* 144: 84-92.
- Carlson LC, Adriano DC, Sajwan SK, Abels LS, Thoma PD, Driver TJ (1991) Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. *Water Air Soil Pollut.* 59: 231-240.
- Caselles J, Colliga C, Zornoza P (2004) Evaluation of trace element pollution from vehicle emissions in petunia plants. *Water Air Soil Pollut.* 136: 1-9.
- Catanese V, Siracusa V, Campiotti CA., Saiano F, Alonzo G (2006) Germination responses of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. on a heavy metal polluted substrate. *Geophys. Res. Abstr.* 8: 03549.
- Di Cagno R, Guidi L, Stefani A, Soldatini GF (1999) Effects of cadmium on growth of *Helianthus annuus* L. seedlings: physiological aspects. *New Phytol.* 144: 65-71.
- Díaz-Garduño M, Díaz-Osornio A, Carrillo-González R, González-Chávez MC (2005) Plantas que se desarrollan en áreas contaminadas con residuos mineros. En González-Chávez MC, Pérez-Moreno J, Carrillo-González R (Eds.) *El Sistema Planta-Microorganismo-Suelo en Áreas Contaminadas con Residuos de Minas*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 9-33.
- Guo TR, Zhang GP, Zhang YH (2007) Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Coll. Surf. B: Biointerfac.* 57: 182-188.
- Jones JB, Case VW (1990) Sampling, handling, and analysing plant tissue samples. En Westerman RL, Baird JV, Christensen NW, Fixen PE, Whitney DA (Eds.) *Soil Testing and Plant Analysis*. SSSA Book Series N° 3. Madison, WI, EEUU. pp. 386-428.

- Lindsay WL (1979). *Chemical Equilibria in Soils*. Wiley. Nueva York, EEUU. 448 pp.
- Lindsay WL, Norvel WA (1978) Development of a DTPA test from soil zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 421-428.
- Loureiro S, Santos C, Pinto G, Costa A, Monteiro M, Nogueira A, Soares A (2006) Toxicity assessment of two soils from Jales mine (Portugal) using plants: growth and biochemical parameters. *Arch. Env. Cont. Toxicol.* 50: 182-190.
- Mejía MJ, Mendoza JL (1995) Distribución de materia seca y desarrollo de raíces tuberosas en plantas de dalia (*Dahlia variabilis* Cav.). *Rev. Chapingo, Ser. Hort.* 3: 135-138.
- Panou-Filotheou AH, Bosabalidis AM, Karatalis S (2001) Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). *Ann. Bot.* 88: 207-214.
- Peralta JR, Gardea Torresdey JL, Tiemann KL, Gomez E, Arteaga S, Rascon E, Parsons JG (2001) Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bull. Env. Cont. Toxicol.* 66: 727-734.
- Pilon-Smits E (2005) Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 15-39.
- PROFEPA (2000) *Disposiciones y Procedimientos para la Caracterización y Restauración de Suelos Contaminados*. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 225 pp.
- Reeves RD, Baker AJM, Brooks RR (1995) Abnormal accumulation of trace metals by plants. *Mining Env. Manag.* 3: 4-8.
- SAS (2004) *The SAS System for Windows*. Release 8. SAS Institute. Cary, NC, EEUU.
- Sharma K, Sharma KP, Grover R (2004) *In vitro* studies to analyze the response of some ornamental plant species to heavy metals at germination and other stages. *Nat. Env. Pollut. Technol.* 3: 369-376.
- Seo KW, Son Y, Rhoades CC, Noh NJ, Ko JW, Kim JG (2008) Seedlings growth and heavy metal accumulation of candidate woody species for revegetation Korea mine spoils. *Restor. Ecol.* 16: 702-712.
- Shen Z, Zhang F, Zhang F (1998) Toxicity of copper and zinc in seedlings of mung bean and inducing accumulation of polyamine. *J. Plant Nutr.* 21: 1153-1162.
- Somashekaraiah BV, Padmaja K, Prasad ARK (1992) Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiol. Plant.* 85: 85-89.
- Ullrich SM, Ramsey MH, Rubika EH (1999) Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soils near Bytom an area of Pb/Zn mining and smelting in Upper Silesia, Poland. *Geochemistry* 14: 187-196.
- US-EPA (2002) *Preliminary Remediation Goals. Region 9. The Pacific Southwest*. United States Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov>. (Cons. 06/2008).
- Wilkins DA (1978) The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol.* 80: 623-633.
- Xiong ZT (1997) Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Env. Pollut.* 97: 275-279.
- Xiong ZT (1998) Leap uptake and effects on seeds germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. *Bull. Env. Contam. Toxicol.* 60: 285-291.

EMERGENCE AND GROWTH OF ORNAMENTAL PLANTS ON SUBSTRATES POLLUTED WITH MINE RESIDUES

María de los Ángeles Rodríguez-Elizalde, Adriana Delgado-Alvarado, Ma. del Carmen A. González-Chávez, Rogelio Carrillo-González, José Merced Mejía-Muñoz and Mateo Vargas-Hernández

SUMMARY

Metal containing mine wastes are usually deposited in tailing heap at open fields. Eventually, the residues are mixed up with the surrounding soils, and as a result of their toxicity only some plant species can colonize them. The aim of this work was to evaluate the effect of mine residues containing high concentration of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb and Mn) on the emergence and development of *Dahlia x hortorum* Willd. (*dalia*), *Tagetes erecta* L. (*tagetes*), and *Cosmos bipinnatus* Cav. (*cosmos*). Substrates were made up of 0, 20, 40 and 60% (v/v) mixtures of mine residues with agricultural soil. Heavy metals did not significantly affect ($\alpha=0.05$) emergence in *dalia*, but in *tagetes* and

cosmos it was decreased. *Dalia* presented higher growth of cotyledons and roots, biomass and tolerance index than in the other two species. Heavy metals significantly decreased ($\alpha=0.05$) total chlorophyll in the three tested species, all of which accumulated high metal concentrations of Cu, Cd, Ni and Pb. The data of this study show that even though seedlings presented morphological and physiological changes, these ornamental plants are able to establish themselves in substrates polluted with metallic mine residues. However, future studies should involve the complete life cycle of the plant in order to understand their behaviour and usefulness in phytoremediation.

EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DE PLANTAS ORNAMENTAIS EM SUSTRATOS CONTAMINADOS COM RESÍDUOS DE MINA

María de los Ángeles Rodríguez-Elizalde, Adriana Delgado-Alvarado, Ma. del Carmen A. González-Chávez, Rogelio Carrillo-González, José Merced Mejía-Muñoz e Mateo Vargas-Hernández

RESUMO

Os resíduos metálicos são usualmente acumulados em montes a céu aberto, os quais tendem a se misturar com o solo local e circundante. Devido ao seu nível de toxicidade somente determinadas espécies os podem desenvolver-se neste solo. O objetivo desta pesquisa foi o de avaliar o efeito dos metais pesados contidos (Cu, Zn, Cd, Pb e Mn) nos resíduos sobre a emergência e desenvolvimento dos vegetais: *Dália* (*Dahlia x hortorum* Willd.); *Tagetes* (*Tagetes erecta* L.) e *Cosmos* (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Foram utilizados no experimento mistura de solo agrícola com resíduos de minas nas proporções de: 0%, 20%, 40% e 60% (v/v). Os resultados obtidos mostraram que não houve modificação significativa ($\alpha=0,05$) na emergência as sementes de *Dália*,

porém, houve modificações com as sementes de *tagetes* e *cosmos*. A *Dália* apresentou maior crescimento de cotilédones, raiz, matéria seca e índice de tolerância do que as outras espécies. Os metais diminuíram significativamente ($\alpha=0,05$) o nível de clorofila total em todas as espécies estudadas, as quais acumularam altas concentrações de Cu, Cd, Ni e Pb em seus tecidos. Baseados nos resultados obtidos podem concluir que, apesar das modificações fisiológicas e morfológicas apresentadas nestas espécies ornamentais, elas podem ser consideradas como fito corretivas. No entanto, estudos futuros deverão envolver todo o ciclo de vida da planta destas espécies.