



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS  
DE HIDALGO

División de Estudios de Posgrado

FACULTAD DE  
BIOLOGÍA



PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA  
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ÁREA TEMÁTICA: FISIOLOGÍA Y GENÉTICA VEGETAL

**CAPTACIÓN Y MOVILIZACIÓN DE CROMO EN PLANTAS DE MAÍZ  
(*Zea mays*) EN SUELO SUPLEMENTADO CON  
NUTRIENTES MINERALES**

TESIS QUE  
PRESENTA

ING. MAGDALENA GONZÁLEZ

ALEJANDRE

PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECTORES DE  
TESIS:

**Dr. Miguel Martínez Trujillo**

**MC. Juan Carlos González  
Cortés**

**Morelia Michoacán, Marzo del 2016**

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de **Genética y Microbiología**, y **Edafología** de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección del **Dr. Miguel Martínez Trujillo** y del **M.C. Juan Carlos González Cortes**, contando con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y de la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

## DEDICATORIAS

Nunca pensé que aquel sueño que,  
Imaginaba cuando era niña  
En este momento lo este  
Viviendo, aunque tú no estés físicamente  
Estas presente en mí,  
Siempre te recordaré; va por ti:

### Abuelito

Siempre es bueno superarse cada día,  
Ser mejor en cada parte que compone nuestro ser,  
Y por lo general esta superación viene acompañada de una inspiración  
Para mi eres tu bolita, eres lo que me inspira para ser mejor cada día,  
En todos los sentidos y demostrarte que los sueños son alcanzables  
Y que hoy mi sueño lo vivo acompañada de ti y para ti,  
¡Eres lo que **más amo** en este mundo!

A mi hija:

**Cristina Rico González**

No puede faltar mi compañero de vida,  
sé que nos ha costado trabajo entendernos  
pero el amor todo lo puede,  
¡Gracias por tu apoyo!

**Juan Ángel Rico Herrera**

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia por comprenderme y ser mi respaldo para afrontar cualquier adversidad **mamá** y **papá**.

A mis hermanos **Ave, Mimí y Gis**, por ser mis cómplices en mis aventuras.

**Al Dr. Miguel Martínez Trujillo** por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo de investigación, por su amabilidad, su paciencia, su sabiduría que me comparte y sobre todo por su apoyo incondicional a esta investigación.

**Al M.C Juan Carlos González Cortés** por su gran apoyo y entusiasmo para la realización de esta investigación y compartirme sus conocimientos.

**A los Doctores Victoriano Roberto Ramírez Rodríguez, Carlos Alberto Ramírez Mandujano y a la Dra. Patricia Ríos Chávez**, por formar parte de esta investigación, por darme tiempo de calidad, por sus conocimientos aportados no solo a la investigación, sino también en mi persona.

A mis compañeros y amigos del laboratorio que me hicieron amenos los días de arduo trabajo en especial a:

**La M.C Ángeles:** quien siempre resolvía mis dudas,

**Aarón:** por ayudarme a tomar las fotografías y en la resolución de algunas dudas.

**Fátima:** por ser mi amiga, escucharme en tiempos complicados y por ser llevaderos los días estresantes de trabajo.

**Nubia:** por ser mi amiga, por la confianza brindada, por ser tan divertidos los días de trabajo.

A **Martin, Gris, Julieta, Yessi, Kari y a la M.C Gloria** quienes siempre me regalaron una sonrisa.

A **Lupita** por ser mi amiga y compañera en esta aventura de la maestría, por brindarme su apoyo y ayuda.

## CONTENIDO

Índice general	4
Índice de figuras	6
Índice de tablas	8
Resumen	9
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 El suelo	11
1.2 Nutrientes minerales	14
1.2.1 El fósforo (P)	15
1.2.2 El Azufre (S)	15
1.2.3 El Nitrógeno (N)	16
1.2.4 El hierro (Fe)	16
1.3 Los metales pesados	17
1.3.1 Los metales pesados en los suelos	18
1.3.2 La acumulación de metales en las plantas	22
1.4. El cromo (Cr)	23
1.4.1. El cromo en el suelo y su movilidad	25
1.4.2. Toxicidad del cromo	27
1.4.3. Efectos tóxicos del cromo en plantas	28
1.4.4. Captación, translocación y acumulación del Cromo.	28
1.5 El maíz ( <i>Zea mays</i> ).	29
2. JUSTIFICACIÓN	32
3. HIPÓTESIS	32
4. OBJETIVOS	32
4.1. Objetivo general	32
4.2. Objetivos específicos	32
5. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1 PRUEBA “IN VITRO” DE GERMINACIÓN Y UNIFORMIDAD DE TALLA	33
5.1.1. Material biológico	33
5.1.2. Preparación de semillas	33
5.1.3. Germinación de semillas, crecimiento y selección de plantas	33
5.1.4 Diseño experimental	33
5.1.5 Esquema de la metodología	34
5. 2. PRUEBA “IN VITRO” DE TOLERANCIA AL CROMO	34
5.2.1. Tratamientos y diseño experimental	34
5.2.2. Índice de tolerancia (TIN)	35
5.3. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO	36
5.3.1. Curva de humedad del suelo en invernadero	36
5.3.2. Características del suelo	36

5.4. CRECIMIENTO DE PLANTAS DE MAÍZ CRECIDAS EN SUELO SUPLEMENTADO CON NUTRIENTES MINERALES	37
5.4.1. Material biológico	37
5.4.2. Preparación de semillas, germinación y selección de plantas	37
5.4.3. Condiciones de invernadero	37
5.4.4. Diseño experimental	37
5.4.5. Cuantificación de Cromo en tejidos vegetales	38
5.5.5. Índice de tolerancia (TIN)	38
5.5.6 Esquema de la metodología	39
6. RESULTADOS	40
6.1 PRUEBA DE GERMINACIÓN “IN VITRO” DE TRES VARIEDADES DE MAÍZ Y LA UNIFORMIDAD DE LA TALLA	40
6. 2. PRUEBA “IN VITRO” DE TOLERANCIA AL CROMO	41
6.3 CURVA DE HUMEDAD DEL SUELO EN INVERNADERO	45
6.4 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO	46
6.5 PLANTAS DE MAÍZ HÍBRIDO PUMA PT3 PONCHO CRECIDAS EN SUELO, CON SUPLEMENTO DE NUTRIENTES MINERALES	48
6.5.1. Tamaño y peso de las plantas.	48
6.5.2. Observaciones cualitativas en el crecimiento de las plantas	53
6.5.3. Índice de Tolerancia al Cromo de las plantas de maíz Puma PT3 Poncho, utilizando el peso fresco.	53
6.5.4. Índice de Tolerancia (TIN) al Cromo de las plantas de maíz Puma PT3 Poncho, utilizando el peso seco.	54
6.5.5. Efecto de nutrientes minerales en la captación de Cromo en plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO.	55
7. DISCUSIÓN	62
8. CONCLUSIONES	65
9. REFERENCIAS	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes del suelo.	12
Figura 2 - Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos.	20
Figura 3.- Compartimentalización de los metales pesados en el suelo.	21
Figura 4. Sitios de la célula donde se fijan los metales pesados	23
Figura 5. Especiación de Cr (VI) en función del pH (fuerza iónica $\approx$ 0.01M y $[\text{Cr (VI)}]= 1.0\text{mg L}^{-1}$ (Programa de software Visual MINTEQ).	25
Figura 6. Ciclo oxido-reducción del cromo en suelos.	26
Figura 7. Transporte y toxicidad del cromato en la célula bacteriana.	27
Figura 8.- Modelo hipotético de transporte y toxicidad de Cr en raíces.	29
Figura 9. Representación esquemática del desarrollo embrionario de la raíz primaria y de las raíces escutelares seminales en maíz.	30
Figura 10. Fotografía comparativa de la plántula de maíz ( <i>Zea mays</i> ) (A) y <i>Arabidopsis thaliana</i> (B) de 14 días de edad.	31
Figura 11. Desarrollo del sistema radicular del maíz. Notar la emergencia de los diferentes tipos de raíces.	31
Figura 12. Diseño experimental de la prueba in vitro de germinación y uniformidad de talla.	34
Figura 13. Diseño experimental de la prueba de tolerancia “in vitro” de las plantas de maíz.	35
Figura 14. Diseño experimental del crecimiento de las plantas de maíz en suelo y su procesamiento para el análisis de las variables agronómicas, así como la captación de Cromo y nutrientes.	39
Figura 15. Plantas de maíz híbrido PUMA PT3 poncho crecidas <i>in vitro</i> en medios con diferentes concentraciones de Cromo.	41
Figura 16. Plantas de maíz híbrido Albatros crecidas <i>in vitro</i> en medios con diferentes concentraciones de Cromo.	41
Figura 17. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de plantas de maíz híbrido PUMA PT3 PONCHO, crecidas <i>in vitro</i> en medios con diferentes concentraciones de Cromo.	42
Figura 18. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de plantas de maíz híbrido Albatros, crecidas <i>in vitro</i> en medios con diferentes concentraciones de Cromo.	43
Figura 19. Índice de Tolerancia (TIN) de plantas de maíz PUMA PT3 poncho, (arriba) y Albatros (abajo), crecidas en diferentes concentraciones de Cromo.	44
Figura 20. Pérdida de humedad del suelo en invernadero a diferentes horas.	45

Figura 21. Muestra los resultados del estudio de fertilidad y cationes intercambiables del suelo de Tiripetío.	47
Figura 22. Tallas promedio de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO, tomadas a diferentes semanas de crecimiento en invernadero.	49
Figura 23. Plantas de maíz híbrido PUMA PT3 PONCHO trasplantadas en suelo contaminado con Cromo a 1mM y suplementados con nutrientes minerales.	49
Figura 24. Talla de la parte aérea de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	50
Figura 25. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	51
Figura 26. Peso seco de la parte aérea y de raíz de las plantas crecidas en suelo suplementado con nutrientes minerales.	52
Figura 27. Índice de Tolerancia (TIN) dado en porcentaje tomando de referencia el peso fresco de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	54
Figura 28. Índice de Tolerancia (TIN) dado en porcentaje tomando de referencia el peso seco de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	55
Figura 29. Concentración promedio de Cr en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	56
Figura 30. Concentración de Cr en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	57
Figura 31. Factor de translocación de la raíz a la parte aérea de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	58
Figura 32. Concentración de Azufre (S) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	59
Figura 33. Concentración de Fósforo (P) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	60
Figura 34. Concentración de Hierro (Fe) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.	61

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de indicadores de calidad físicos, químicos y biológicos citados en la literatura y utilizados en sistemas agrícolas y forestales.	13
Tabla 2. Rangos de concentraciones típicas de metales traza en los tipos de rocas más abundantes (en mg kg <sup>-1</sup> ).	18
Tabla 3. Principales propiedades del Cromo.	23
Tabla 4. Análisis realizados en el laboratorio de edafología de la UMSNH.	36
Tabla 5. Suplementos de Cromo y nutrientes en el suelo, para cada tratamiento donde se crecieron las plantas de maíz.	37
Tabla 6. Análisis de la germinación y uniformidad de talla en tres variedades de maíz.	40
Tablas 7 y 8. Resultados del análisis físico y químico del suelo de Tiripetío.	46

## RESUMEN

El cromo (Cr) es el séptimo metal más abundante en la corteza terrestre, varía de 100 a 300  $\mu\text{g/g}$ , sin embargo, la inadecuada disposición de desechos provenientes de procesos industriales lo han convertido en un importante contaminante ambiental. Una vez depositado el Cromo en suelos o aguas superficiales, su mayor parte se encuentra en forma soluble, formando precipitados o adsorbido a la fracción sólida de los suelos y sedimentos. Los componentes del cromo son altamente tóxicos a las plantas y son perjudiciales sobre su crecimiento y desarrollo, por lo que es necesario establecer estrategias ya sea para remover el metal de los suelos contaminados y a la vez proteger a las plantas para evitar la disminución de su productividad. En este trabajo se utilizaron plantas de maíz de 3 variedades, Puma PT3 Poncho, Albatros y Canelo, para evaluar su tolerancia al Cromo en condiciones *in vitro*, resultando más tolerante la variedad Puma, que aunque redujo su crecimiento en concentraciones de 100 a 1000  $\mu\text{M}$  del metal, continuó su crecimiento. Posteriormente se evaluó la tolerancia de las plantas de maíz de la variedad Puma, creciéndolas en un suelo franco arenoso con un pH moderadamente ácido (pH = 6.1), suplementado con Cromo a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$  a capacidad de campo; además se evaluó el efecto de algunos suplementos minerales en la tolerancia al Cromo y en la captación del metal. Los resultados obtenidos mostraron que el crecimiento de las plantas se inhibe en todos los tratamientos con Cromo, no obstante que las plantas desarrollaron clorosis a las 2 semanas cuando no hubo suplemento de nutrientes. Respecto a la captación de Cromo, los principales resultados mostraron que: a) La mayor captación de Cromo se presentó cuando se suplementó el suelo con nitrato o con una combinación de éste con sulfato, fosfato y hierro, b) Los suplementos de sulfato, fosfato o hierro, por separado, disminuyeron la captación de Cromo por las plantas, c) La mayor concentración de Cromo se presentó en las raíces y la movilización de éste a la parte aérea fue de aproximadamente una sexta parte. De manera general, con los resultados obtenidos se puede concluir que la variedad de maíz Puma es lo suficientemente tolerante al Cromo y permite la captación del metal, proceso que es influido por el suplemento de algunos nutrientes minerales.

Palabras clave: Cromo, Maíz, Tolerancia, Captación, Movilización.

## ABSTRACT

Chromium (Cr) is the seventh most abundant metal in the earth's crust, its concentration varies from 100-300  $\mu\text{g/g}$ , however, the improper disposal of waste from industrial processes have made this metal an important environmental contaminant. Once Chrome is deposited in soil or surface water, mostly it found in soluble form, forming precipitates or adsorbed to the solid fraction of soils and sediments. The chromium compounds are highly toxic to plants and are detrimental to their growth and development, so it is necessary to establish strategies either to remove the metal from contaminated soil while protecting the plants to prevent loss of productivity. In this paper, three varieties of maize plants were used, Puma PT3 Poncho, Albatros and Canelo, to assess their tolerance Chrome under in vitro conditions, being more tolerant variety Puma, although its growth was reduced at concentrations of 100 to 1000  $\mu\text{M}$  of metal continued its development. Subsequently, the tolerance of plants corn variety Puma was evaluated by growing in a sandy loam soil with mildly acidic pH (pH = 6.1), supplemented with chromium at a concentration of 1000  $\mu\text{M}$  at field capacity of water; moreover, the effect of some mineral supplements in tolerance and Chromium metal uptake was evaluated. The results showed that plant growth is inhibited in all treatments with chromium, however, that the plants developed chlorosis at 2 weeks when mineral nutrients were not supplemented. Regarding the uptake of chromium, the main results showed that: a) The increased uptake of Chrome came when the soil was supplemented with nitrate or a combination thereof with sulfate, phosphate and iron, b) With supplements of sulfate, phosphate or iron separately, the Chrome uptake by plants was diminished, c) The largest concentration of Chromium was in the roots, and the mobilization of this metal to the shoot was about one-sixth. Taken together, with our results it can be concluded that the maize variety Puma is sufficiently tolerant to Chromium and allows the uptake of this metal, a process that is influenced by the supplement of some mineral nutrients.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados constituyen un grupo cercano a los 40 elementos de la tabla periódica que normalmente tienen una densidad mayor o igual a  $5 \text{ g/cm}^3$  (Passow 1962). El rasgo distintivo de la fisiología de los metales pesados es que aún cuando muchos de ellos son esenciales para el crecimiento como es el caso del Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Mo, se ha reportado que también tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas. Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, a los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de aguas superficiales y subterráneas se les ha dado prioridad como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente (Cañizales-Villanueva, 2000).

El cromo (Cr) es el séptimo metal más abundante en la corteza terrestre, varía de 100 a 300  $\mu\text{g/g}$ , sin embargo, la inadecuada disposición de desechos provenientes de procesos industriales lo han convertido en un importante contaminante ambiental (Skeffington *et al.* 1976). El metal posee un uso intenso en la industria metalúrgica, las sales de Cr se utilizan en muchos productos tales como curtidos de cuero, galvanoplastia, la producción de acero, acabado de metales, catalizador, en la fabricación de pigmentos y en la corrosión de metales, por lo tanto está presente en los efluentes de las industrias y en las aguas residuales (Hayat *et al.* 2011).

Si bien existen plantas que acumulan altas concentraciones de metales, éstas son de crecimiento lento y difíciles de cultivar a gran escala, para propósitos de bioremediación. En este trabajo se analiza la captación de Cr en plantas de maíz (*Zea mays*), la cual produce una abundante biomasa y de la cual existen diferentes variedades que se pueden utilizar en diferentes condiciones de clima y suelo.

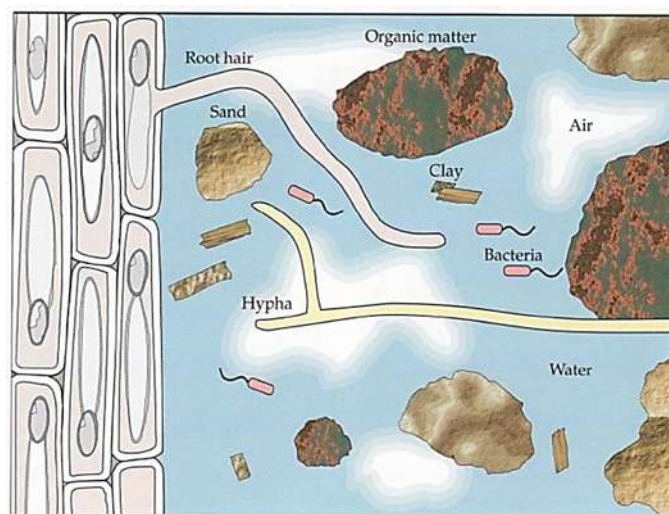
### 1.1 EL SUELO

El suelo es un componente crítico de la biósfera no renovable a escala humana. La salud de los recursos del suelo y una correcta gestión de los mismos es vital, no sólo para el correcto funcionamiento de los ecosistemas, sino también para que los suelos desempeñen sus múltiples funciones en la mejora de la productividad biológica, soporte para el crecimiento de la cobertura vegetal, regulación y almacenamiento del flujo hídrico en el medio ambiente, atenuación de

los efectos nocivos de contaminantes mediante procesos físicos, químicos y biológicos, e incluso la mejora de la salud humana y los usos recreativos y estéticos de los paisajes (Glanz 1995; Sonjka y Upchurch1999; Singer y Sojka,2001).

El suelo es el medio primario para la nutrición mineral de las plantas terrestres. El suelo tiene 5 componentes principales: materia mineral, agua con solutos, gases, organismos vivos y materia orgánica (figura 1). En el suelo, el tamaño de las partículas es una característica clave que define su textura. Las partículas minerales están compuestas principalmente de óxidos de aluminio y óxidos de silicio. La materia orgánica del suelo contiene entre otros grupos químicos los aminos, carboxilos e hidroxilos. Estas moléculas minerales y orgánicas forman cargas negativas fijas sobre las partículas del suelo, lo que permite que interaccionen con los iones positivos de la solución del suelo; entre menor sea el tamaño de las partículas del suelo habrá más superficie de interacción. (Epstein y Bloom 2005).

Los cationes en solución se intercambian libremente con aquellos adsorbidos sobre las partículas sólidas, lo que es conocido como capacidad de intercambio de cationes. Los aniones tales como fosfato, sulfato, nitrato y cloro son encontrados inevitablemente en la solución del suelo, junto con cantidades equivalentes de cationes. La solución del suelo es la fuente más importante de nutrientes para las plantas y consiste en una solución diluida que quedaría sin nutrientes si las partículas del suelo no liberaran minerales de manera constante ó si los microorganismos del suelo no catabolizarán rápidamente la materia orgánica. (Epstein y Bloom 2005).



**Figura 1. Componentes del suelo. Tomada de Epstein y Bloom (2005).**

Doran y Parkin (1994) y autores posteriores, desarrollaron una lista de las propiedades básicas de los suelos que satisfacen muchos de los requerimientos para constituir un buen indicador de la calidad de éste (Tabla 1), pues abarcan la mayor parte de los procesos biogeoquímicos que se dan en un ecosistema, integran las propiedades físicas, químicas, biológicas y bioquímicas de diferentes procesos, la mayor parte de ellas son accesibles a cualquier usuario y aplicables en condiciones de campo, son sensibles a diferentes condiciones de manejo y al clima, y se pueden en bases de datos existentes (García *et al.* 2003).

INDICADORES DE CALIDAD	RELACIÓN ENTRE EL ESTADO DEL SUELO Y FUNCIÓN	UNIDAD DE MEDIDA REFERENCIAS
<b>FISICOS</b>		
Textura	Controla la retención y transporte del agua u nutrientes y, retención, asimilación e intercambio de oxígeno.	% arena, arcilla y limos. Doran y Parkin, 1994.
Profundidad de enraizamiento del suelo	Influencia la mayoría de los recursos (agua, oxígeno y nutrientes) disponibles para las plantas por unidad de área.	Grosor del suelo (cm). Larson y Pierce, 1991. Doran y Parkin, 1994.
Densidad aparente	Controlar el porcentaje de compactación del suelo. Afecta a propiedades y procesos que influyen en el agua y suministro de oxígeno, productividad y erosividad.	Cilindro ( $\text{g cm}^{-3}$ ), Larson y Pierce, 1991. Doran y Parkin, 1994. Kay and Grant, 1996
Capacidad de retención de agua.	Relaciona la retención del agua, transporte y erosión: agua disponible.	Agua (cm), $33 > 1500 \text{ kPa}$ . Doran y Parkin, 1994, Kay and Grant, 1996.
Porosidad	Indicador de cambios físicos inducidos por gestión que conducen a desequilibrios en el aire y agua. Retención de agua. Crecimiento de las raíces.	% volumen del suelo. Powers <i>et al.</i> , 1998.
Estabilidad estructural	Controla los desequilibrios en el aire y agua. Crecimiento de las raíces.	Método de tamiz húmedo. Kay and Grant, 1996.
<b>QUIMICOS</b>		
Materia orgánica	Papel fundamental en la estabilidad de agregados; porosidad, reacción con oxígeno intercambiable, agua disponible, reserva en el ciclo del carbono y reposición de nutrientes.	$\text{g kg}^{-1}$ de C. Larson y Pierce, 1994. Doran y Parkin, 1994. Papendick, 1991.

pH	Define el umbral para la actividad química y biológica. Parámetro de disponibilidad de nutrientes para productividad de plantas y componentes medioambientales. Esencial en procesos de modelado.	Doran y Parkin, 1994. Aune y Lal, 1997.
Capacidad de Intercambio Catiónico	Diferencias en la gestión de nutrientes entre suelos agrícolas y forestales.	Papendick, 1991. Larson y Pierce, 1994.
Conductividad Eléctrica	Define umbrales para la actividad microbiológica y de plantas.	dS/m. Larson y Pierce, 1994.
N, F y K intercambiable	Nutrientes disponibles para plantas y potencial de pérdida de nitrógeno; indicador de calidad de productividad y medio ambiente.	Kg N/ha-30 cm. Aune y Lal, 1997. Larson y Pierce, 1994. Doran y Parkin, 1994.
<b>BIOLÓGICOS</b>		
Biomasa microbiana	Potencial catalítico microbiano y reposición de carbono y nitrógeno.	Kg de N o C/ha-30 cm
N potencialmente mineralizable	Productividad del suelo y N disponible. Procesos de modelado.	Kg N/ha-30 cm/d. Doran y Parkin, 1994. Reganold y Palmer, 1995.
Respiración del suelo	Actividad relativa de biomasa microbiana	Medida de actividad microbiana.
Actividad enzimática	Informan del cambio de calidad en los suelos debido a actividad antrópica.	Dick, 1994; Burns, 1982.

**Tabla 1. Resumen de indicadores de calidad físicos, químicos y biológicos citados en la literatura y utilizados en sistemas agrícolas y forestales. Tomada de Doran y Parkin (1994).**

## 1.2 NUTRIENTES MINERALES

Las plantas son organismos cuyos requerimientos vitales son cubiertos por la luz, el CO<sub>2</sub>, el agua, y el suministro de nutrientes minerales por el suelo. Únicamente ciertos elementos químicos son esenciales para las plantas. Un elemento esencial se define como aquel que es un componente intrínseco de la estructura o metabolismo del organismo y cuya ausencia causa severas anomalías en el crecimiento, desarrollo o reproducción. Los elementos esenciales son usualmente clasificados como macronutrientes o micronutrientes, de acuerdo a su concentración relativa en el tejido de la planta. Los macronutrientes, son

requeridos en grandes cantidades con relación a los micronutrientes e incluyen al N, K, S, P, Mg y Ca. Algunos micronutrientes son el Fe y el Zn (Taiz y Zeiger, 2006).

Las plantas poseen proteínas de transporte (transportadores) para la captación de los nutrientes y su movilización a los diferentes tejidos y compartimentos celulares, las cuales difieren entre sí no únicamente en su localización, sino también en su modo de activación, su especificidad y afinidad por el sustrato (Amtmann y Blatt, 2008).

### **1.2.1. El fósforo (P)**

En el suelo, el fósforo (P) se encuentra en diferentes formas, como P orgánico y P inorgánico (Pi), este último usualmente como iones de fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{HPO}_4^{-2}$  y  $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ ). Con frecuencia el P es un nutriente limitante debido a su baja disponibilidad y movilidad. El transporte de fosfato a través de la membrana implica un gasto energético, debido a la concentración relativamente alta de éste en el citoplasma y al potencial negativo de membrana característico de las células. Existen dos sistemas de transporte de fosfato, uno de alta afinidad, cuya actividad se induce en condiciones de deficiencia y uno de baja afinidad, que es constitutivo. Avances recientes en la biología molecular de transportadores de Pi de la membrana plasmática y del tonoplasto confirman que las plantas tienen múltiples transportadores de Pi, entre los que se encuentran Pht1, Pht2 y Pht4; 6 (Bucher *et al.* 2001; Cubero *et al.* 2009). La familia Pht1 contiene transportadores de alta afinidad. Esta familia incluye 17 de los 18 genes de transportadores de Pi en plantas (Mudge *et al.* 2002). El gen ARAth; Pht2.,1 muestra baja afinidad y es el primer miembro de la familia Pht2 que ha sido aislado, el cual se expresa principalmente en hojas (Daram *et al.* 1999). De la familia Pht1, al menos 12 genes se inducen en raíz en respuesta a la deficiencia de Pi, los cuales se expresan diferencialmente, mientras que algunos son fuertemente regulados por deficiencia de Pi, otros tienen expresión constitutiva (Mudge *et al.* 2002).

### **1.2.2. El Azufre (S)**

El azufre (S) está disponible para las plantas principalmente en la forma de sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Leustek y Saito 1999). Una vez que el  $\text{SO}_4^{2-}$  ingresa por las células de la raíz, éste se acumula transitoriamente en las vacuolas, o bien entra a la compleja ruta metabólica de reducción de  $\text{SO}_4^{2-}$  en los cloroplastos de las hojas. Los genes que codifican los transportadores de  $\text{SO}_4^{2-}$  se clasifican dentro de 5 sub-familias

(SULTR1 a SULTR5) con base en la similitud de su secuencia. En *Arabidopsis*, se identificaron 14 miembros (Davidian y Kopriva 2010). Los transportadores de alta afinidad se expresan exclusivamente en la raíz, mientras que los de baja afinidad se expresan constitutivamente. El nivel de transcrito de los genes pertenecientes a los transportadores de alta afinidad se incrementa rápidamente ante la deficiencia de azufre, mientras que los de baja afinidad son insensibles o responden más lentamente a los cambios en el abastecimiento de  $\text{SO}_4^{2-}$  (Leustek y Saito 1999).

### 1.2.3. El Nitrógeno (N)

El nitrógeno (N) es un nutriente mineral requerido en grandes cantidades y su disponibilidad es un factor limitante para el crecimiento y desarrollo vegetal (Kraiser *et al.* 2011). Las plantas adquieren N del suelo en su forma inorgánica, como amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). La abundancia relativa de estos dos iones es muy variable y en gran medida depende de la velocidad de dos procesos microbianos: la mineralización y la nitrificación (Crawford y Forde 2002). Las plantas poseen diferentes sistemas de transporte del N para hacer frente a la disponibilidad heterogénea de este nutriente en el suelo. Se han descrito dos tipos de sistemas para la captación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), incluyendo un sistema de transporte de baja afinidad (LATS), el cual opera a una alta concentración del nutriente ( $>1$  mM) y un sistema de transporte de alta afinidad (HATS) que predomina en condiciones de deficiencia nutrimental. La modulación de la función HATS y LATS, en coordinación con cambios en los patrones de crecimiento y desarrollo, permiten a la planta hacer frente a la escasez eventual de N en el suelo. Se han identificado dos familias de transportadores, NRT1 y NRT2. La familia de genes NRT2, codifica transportadores de  $\text{NO}_3^-$  de alta afinidad, mientras que NRT1 codifica transportadores de baja afinidad (Kraiser *et al.* 2011).

### 1.2.4. El hierro (Fe)

Las funciones y efectos fisiológicos del hierro (Fe) en las plantas dependen de los cambios en sus estados de oxidación, entre  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  y de la formación de complejos con radicales orgánicos e inorgánicos. Se ha demostrado que las raíces de las plantas reducen  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  y este proceso parece que es un requisito esencial para absorberlo a partir de la solución del suelo. Después de su absorción, el  $\text{Fe}^{2+}$  se oxida y se transporta a la parte aérea en forma de citrato férrico, parte del hierro puede almacenarse en las hojas en forma de fosfoproteína férrica: fitoferritina, que sirve de reserva para el desarrollo de los plastos y en consecuencia para la fotosíntesis (Wild 1988). El transporte de hierro a larga

distancia en el xilema de la planta probablemente es mediado por los ácidos orgánicos, tales como el citrato y el malato (Viander *et al.* 1999).

### 1.3. LOS METALES PESADOS

Los metales pesados son elementos químicos del grupo de los metales, con densidad superior a 4.5 g/cm<sup>3</sup> y masa atómica alta. De acuerdo con Tiller (1989), parece que el término de “metal pesado” puede ser utilizado de una forma globalizadora para referirse a aquellos metales clasificados como contaminantes ambientales.

Dadas sus características de acumulación y toxicidad en organismos vivos, los metales pesados se convierten en sustancias químicas de interés ambiental. Los de mayor importancia son Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Cromo (Cr), Plomo (Pb), Cobalto (Co), Vanadio (V), Titanio (Ti), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Plata (Ag), y Estroncio (Sn). Algunos de estos metales son indispensables para la vida en pocas proporciones teniendo un límite de tolerancia por exposición a los mismos, el cual depende de diversos factores tanto ambientales, como físicos y metabólicos, además de la vía de exposición (Gutiérrez 2005).

Entre los metales pesados hay elementos esenciales y no esenciales para los seres vivos, aunque el límite entre estos dos grupos no está claramente delimitado y la lista de elementos biológicamente importantes aumenta con el tiempo. Normalmente se reconocen como elementos esenciales al Fe, Mn, Zn, Cu, Co y Mo, como elementos benéficos al Ni y Cr, y se considera que no tienen ninguna función biológica elementos como el Cd, Hg, Pb y As (). Los metales pesados, ya sean esenciales o no, pueden llegar a ser tóxicos cuando su aporte es excesivo y afectar negativamente al crecimiento y reproducción de los organismos, pudiéndoles causar incluso la muerte.

Dentro de los metales pesados podemos hacer una clasificación dividiéndoles en dos grupos: 1) oligoelementos o también conocidos como micronutrientes, los cuales son los requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza por plantas y animales, debido a que son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital; pasado cierto umbral se vuelven tóxicos y son el arsénico (As), boro (B), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), molibdeno (Mo), manganeso (Mn), níquel (Ni), hierro (Fe), selenio (Se) y zinc (Zn); y 2) metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva apareja disfunciones en el funcionamiento de sus

organismos, resultan altamente tóxicos, presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos y son el cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), antimonio (Sb), bismuto (Bi), estaño (Sn), talio (Tl). (Brady y Weil, 2002; García y Dorronsoro 2005).

### 1.3.1. Los metales pesados en los suelos

Todos los suelos poseen metales pesados como resultado de los procesos geológicos y edafogenéticos. Al contenido natural de elementos químicos existentes en un suelo se le llama fondo geoquímico local (FG) o nivel de fondo (Ross 1994), y representa una situación ideal que se debe conocer para determinar la contaminación por la presencia de cantidades de metales inusualmente elevadas (Gough 1993). Existen multitud de referencias que definen los rangos típicos de metales pesados en las distintas rocas y que ponen de manifiesto la amplia variabilidad existente (Adriano 1986; Alloway 1995; Kabata Pendias y Pendias 1992; Merian 1991; Ross 1994) (Tabla 2).

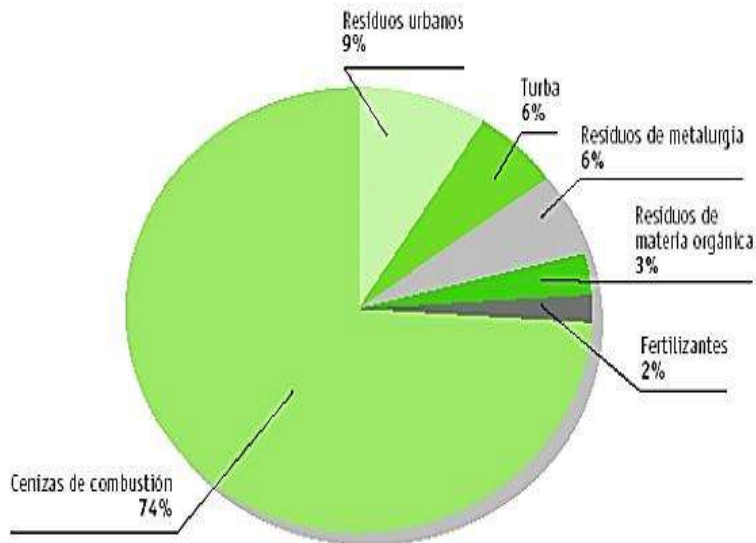
	Rocas Ígneas			Rocas Sedimentarias		
	Ultrabásicas	Básicas	Granitos	Caliza	Arenisca	Esquisto
<b>Cd</b>	0.12	0.13-0.2	0.09-0.2	0.028-0.1	0.05	0.2
<b>Co</b>	110-150	35-50	1	0.1-4	0.3	19-20
<b>Cr</b>	2000-2980	200	4	10-11	35	90-100
<b>Cu</b>	10-42	90-100	10-13	5.5-15	30	39-50
<b>Hg</b>	0.004	0.01-0.08	0.08	0.05-0.16	0.03-0.29	0.18-0.5
<b>Mn</b>	1040-1300	1500-2200	400-500	620-1100	4-60	850
<b>Ni</b>	2000	150	0.5	7-12	2-9	68-70
<b>Pb</b>	0.1-14	3-5	20-24	5.7-7	8-10	20-23
<b>Sn</b>	0.5	1-1.5	3-3.5	0.5-4	0.5	4-6
<b>Zn</b>	50-58	100	40-52	20-25	16-30	100-120

**Tabla 2. Rangos de concentraciones típicas de metales traza en los tipos de rocas más abundantes (en mg kg<sup>-1</sup>) (Ross 1994).**

La contaminación de los suelos deriva de un incremento del contenido de metales en muchas ocasiones, varias veces por encima del FG, que surge de la ejecución de determinadas actividades humanas (Nriagu 1984). La UE distingue cinco categorías de actividades potencialmente contaminantes de metales pesados (Van-Camp *et al.* 2004):

- Industria: accidentes, vertidos, escapes o fugas, almacenamiento y deposición de residuos.
- Actividades mineras: con un riesgo generalmente asociado con el almacenamiento y deposición de escombreras, drenajes ácidos y el uso de ciertos reactivos químicos.
- Actividades de procesado de residuos.
- Tráfico: a través de emisión de gases, pérdidas de aceites y gasolinas, abrasión de gomas de los neumáticos, etc.
- Otras actividades: productos de construcción usados sobre el suelo (hormigones, pinturas), prácticas inadecuadas de agricultura (uso de fertilizantes y pesticidas) almacenamientos privados y comerciales (tanques, gasolineras), sistemas de tratamientos de aguas, etc.

En la Figura 2 se representa las principales fuentes de contaminación del suelo por metales pesados según los datos disponibles. Este tipo de actividades contaminantes aportan metales pesados a los suelos hasta que alcanzan niveles que superan los límites propuestos, causando frecuentemente efectos tóxicos para los organismos. Se estima, por ejemplo, que el aporte de metales como Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Mo, Zn y de metaloides como Se derivado de actividades industriales, es aproximadamente de 10 a 20 veces mayor que la cantidad aportada por la meteorización natural de los materiales geológicos (Nriagu 1990).



**Figura 2 - Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos.** (Mas y Azcúe 1993).

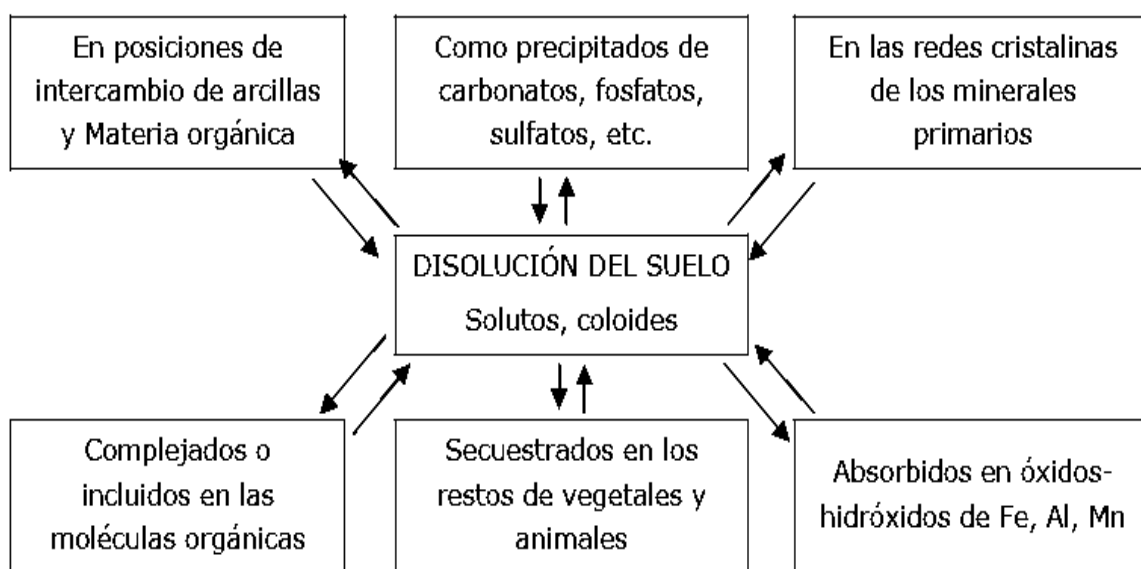
Los metales pesados son tóxicos como cationes, puesto que inhiben la acción de varias enzimas biológicamente importantes, además estos pueden adherirse firmemente al suelo y solamente una pequeña cantidad puede disolverse en agua pasando así a los niveles más profundos del suelo contaminando las aguas subterráneas. (Pinzón *et al.* 1995).

Las condiciones físico químicas y bioquímicas de los sistemas acuáticos y los sedimentos, respectivamente, determinan fenómenos semejantes. Considerando el movimiento de los metales pesados dentro de los sedimentos se deben considerar dos factores como son el pH y el potencial redox. La transformación de los metales pesados contenidos dentro de los sedimentos incluye procesos como:

- La formación y la disolución de metales fijos en carbonatos
- La formación y descomposición de compuestos orgánicos metálicos solubles e insolubles.
- La formación y disolución de hidróxidos y oxihidratos.

Las formas químicas en las que se encuentran los metales en el suelo y en gran medida la movilidad y biodisponibilidad que presentan viene determinada por el conjunto de los diferentes componentes del suelo, así como los factores químicos, físicos y biológicos que influyen en la reactividad de esos componentes

(He *et al.* 1998; García *et al.* 2005). Los elementos traza de un suelo se reparten entre una fracción soluble en agua, en posiciones intercambiables de arcillas y materia orgánica, unidos a óxidos, carbonatos, sulfatos y fosfatos, complejados en materia orgánica y dentro de las redes cristalinas de la fracción residual (Shuman 1991) (Figura 3). El equilibrio de los metales entre los diferentes componentes del suelo viene regulado por una serie de procesos bióticos y abióticos que gobiernan su comportamiento y determinan su permanencia en un compartimento u otro, es decir, su especiación biogeoquímica. Ello provoca una dinámica e intercambio de elementos entre las diferentes fases que mantiene un sistema de quasi-equilibrio bajo condiciones de campo (He *et al.* 1998).



**Figura 3. Compartimentalización de los metales pesados en el suelo. (López Arias y Grau-Corbí 2004).**

Los procesos que gobiernan la compartimentalización de metales en los suelos se traducen en reacciones de adsorción-desorción y precipitación-disolución, que afectan directamente al reparto de metales entre la fase sólida y acuosa, así como reacciones de complejación y oxidación-reducción que afectan a la reactividad del propio metal (solubilidad y biodisponibilidad) (Navas y Lindhorfer 2003; Basta *et al.* 2005). Estas reacciones están controladas por factores ambientales como el pH, la capacidad de intercambio de cationes (CIC), el potencial redox y el propio tipo y especiación química de los elementos (Adriano 1986; Alloway 1995; McBride 1994; Sposito 1989).

El contenido de humedad de los suelos es otro factor importante que gobierna la especiación de metales y su movilidad a través de reacciones de

oxidación-reducción. Bajo condiciones reductoras se pueden formar sulfuros de metales, que son bastante insolubles, por lo que la movilidad y biodisponibilidad son considerablemente menores que las esperadas bajo condiciones oxidantes. Finalmente, ciertas propiedades físico-químicas de los propios elementos, como su electronegatividad, el potencial iónico, radio iónico y diámetro del ión hidratado en disolución acuosa, presentan igualmente influencia sobre el comportamiento biogeoquímico de los metales. (Diez Lázaro 2008).

### 1.3.2 La acumulación de metales en las plantas

De acuerdo a Clemens, Palmgren y Krämer (2002), el proceso de acumulación de metales involucra en general los siguientes mecanismos (figura 4):

- Los iones alcanzan la zona de absorción de la raíz por difusión a través de la solución salina del suelo, son arrastrados por el movimiento del agua hacia la raíz o entran en contacto con las zonas de absorción a medida que la raíz crece. Los iones metálicos son movilizados por la secreción de quelantes o por la acidificación de la rizósfera.
- Las raíces capturan a los metales hidratados o a los complejos metal-quelante por medio de sistemas de transporte como bombas primaria, canales iónicos y transportadores.
- Los metales se transportan de las raíces a la parte aérea vía el xilema, dentro de él los metales se presentan como iones hidratados o como complejo metal-quelante principalmente con histidina y ácido cítrico como ligandos.
- Después de penetrar al apoplasto de las hojas, los metales se distribuyen dentro de las células, manteniendo en cada organelo las concentraciones dentro de rangos fisiológicos específicos; el exceso de metales esenciales y no esenciales se almacenan en las vacuolas.
- Cuando la planta es sometida a estrés por metales pesados, se producen las Fitoquelatinas (FQ), que son péptidos de bajo peso molecular ricos en cisteína; que fijan los metales formando enlaces tiol con los residuos de cisteína, no están codificadas por genes estructurales y la FQ-sintasa que se activa en presencia de metales pesados y se inactiva en su ausencia (Delgadillo *et al.* 2011).

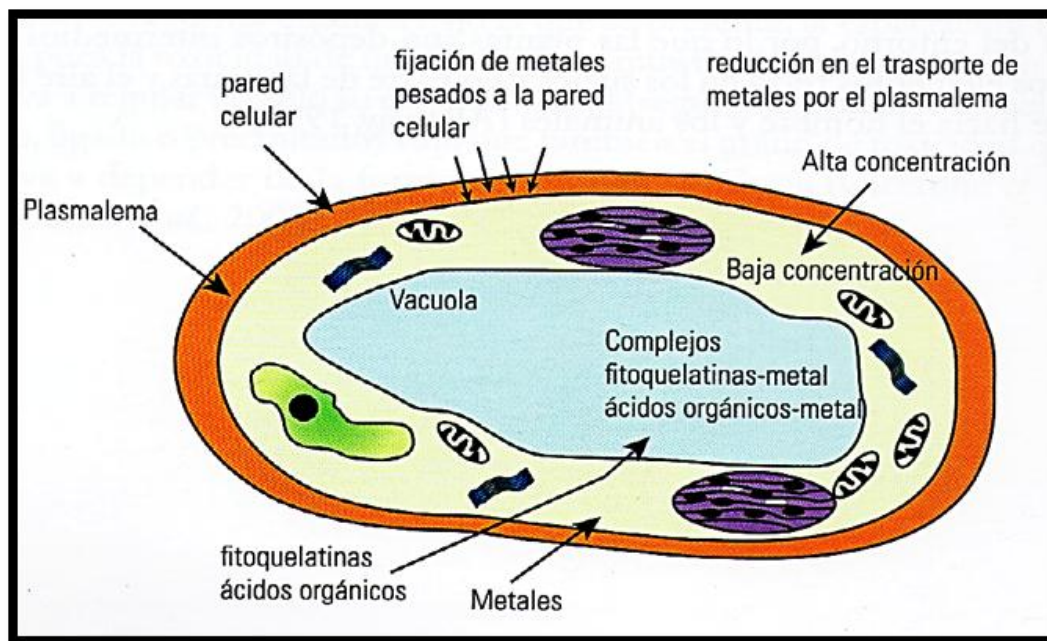


Figura 4. Sitios de la célula donde se fijan los metales pesados.

#### 1.4. EL CROMO (Cr)

Es un metal de color plateado, duro y quebradizo. En la tabla 3 se listan sus principales propiedades.

<b>Nombre</b>	Cromo
<b>Número atómico</b>	24
<b>Valencia</b>	2,3,4,5,6
<b>Estado de oxidación</b>	+3
<b>Electronegatividad</b>	1,6
<b>Radio covalente (Å)</b>	1,27
<b>Radio iónico (Å)</b>	0,69
<b>Radio atómico (Å)</b>	1,27
<b>Configuración electrónica</b>	[Ar]3d <sup>5</sup> 4s <sup>1</sup>
<b>Primer potencial de ionización (eV)</b>	6,80
<b>Masa atómica (g/mol)</b>	51,996
<b>Densidad (g/ml)</b>	7,19
<b>Punto de ebullición (°C)</b>	2665
<b>Punto de fusión (°C)</b>	1875

Tabla 3. Principales propiedades del Cromo. (Lenntech 2011).

En la naturaleza, el cromo se encuentra principalmente en dos estados de oxidación: la forma trivalente Cr (III), que es relativamente inocua, y la forma hexavalente Cr (VI), considerada una especie tóxica. El Cr (III) a nivel extracelular es relativamente inocuo debido a su insolubilidad. En contraste, en el interior de la

célula el Cr (III) es altamente tóxico debido a su capacidad para unirse al DNA y a las proteínas. El Cr (VI) usualmente se encuentra como iones cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) o dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), los cuales atraviesan fácilmente las membranas plasmáticas al ser capturados erróneamente por el sistema de transporte de sulfato. En el ambiente, el Cr (VI) puede ser reducido a Cr (III), ya sea de manera abiótica o mediante enzimas llamadas cromato reductasas. El estudio de estas enzimas ha adquirido gran interés por su posible uso en la biorremediación de la contaminación por cromato. (Ramírez-Díaz *et al.* 2009).

La presencia, concentración y forma del cromo trivalente como ion libre en el ambiente depende de diferentes procesos químicos y físicos, tales como, la hidrólisis, formación de complejos, reacciones redox y adsorción. Como par iónico libre el Cr (III) existe como  $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  y como los productos de su hidrólisis. Estos productos son el  $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}_{\text{aq}}$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}_{\text{aq}}$  y  $\text{Cr}(\text{OH})_3_{\text{aq}}$  los cuales predominan en solución en un rango de pH de 4 -10. Otras especies que puede formar el Cr (III) son los complejos octaédricos hexa-coordinados con ligandos como el agua, amoniaco, urea, etilendiamina y algunos ligandos orgánicos cuando esté actúa como ácido fuerte (Sotelo-Muñoz 2012).

El Cr (VI) forma diferentes especies dependiendo del pH y la concentración total de Cr (VI). La dependencia de este ión con el pH se presenta en la Figura 5, en ella se observa que a valores de  $\text{pH} > 7$  predominan los iones  $\text{CrO}_4^{2-}$ , mientras que, a valores de pH entre 1 y 6, predomina el  $\text{HCrO}_4^-$  (Cotton y Wilkinson 1980; Greenwood y Earnshaw 1984; Nieboer y Jusys 1988). Es por esto que a los valores de pH normales de las aguas naturales se esperaría encontrar los iones  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCrO}_4^-$  o  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ . Stollenwerk y Grove en 1985 encontraron que compuestos donantes de electrones, tales como la materia orgánica o especies inorgánicas reductoras, las cuales son muy abundantes en el suelo, el agua y la atmósfera, son capaces de reducir dichas especies de Cr(VI) a especies de Cr(III).

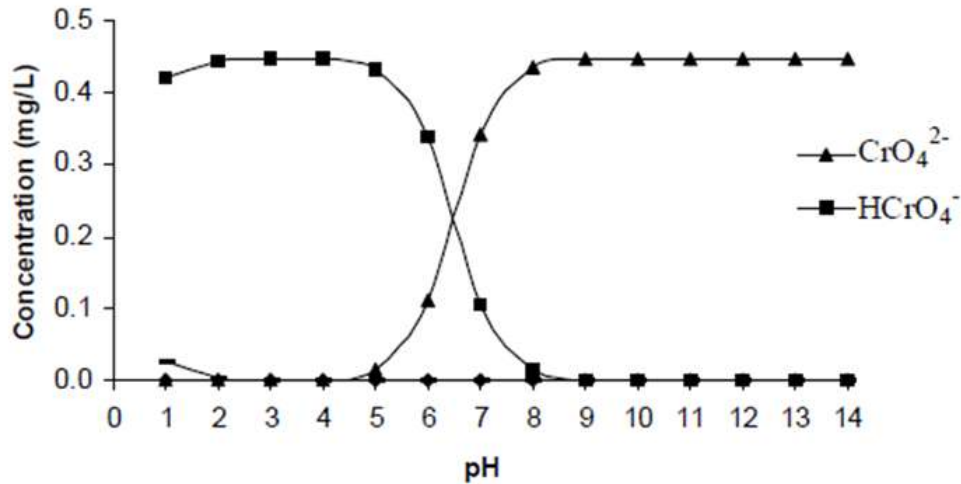


Figura 5. Especiación de Cr (VI) en función del pH (fuerza iónica  $\approx 0.01M$  y  $[Cr(VI)] = 1.0mg L^{-1}$  (Programa de software Visual MINTEQ).

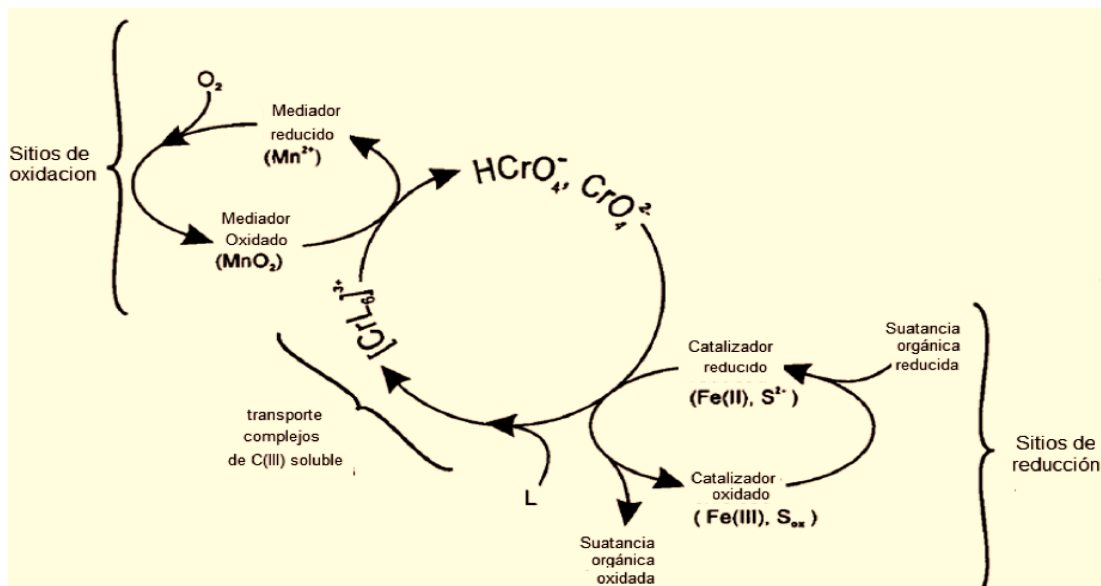
#### 1.4.1. El cromo en el suelo y su movilidad

Una vez depositado el Cromo en suelos o aguas superficiales, su mayor parte se encuentra en forma soluble, formando precipitados o adsorbido a la fracción sólida de los suelos y sedimentos (Moreno Grau 2003). El agente reductor más importante del suelo es la materia orgánica, en suelos bien aireados el oxígeno actúa como el aceptor de electrones más fuerte, seguido de metales como el hierro y el cromo. El potencial redox del suelo afecta el tipo de especies de metales en la solución del suelo alterando su solubilidad. (Patrick y Jugsujinda 1992; Kabata-Pendias 2000). Todos los estudios de especiación de iones en los suelos se han desarrollado asociados al hecho de que los suelos en equilibrio parcial con el oxígeno atmosférico contienen manganeso oxidado y especies reductoras. La oxidación de Cr (III) a Cr (VI) puede darse por diferentes agentes en el suelo, especialmente por el manganeso, mientras que las reacciones de reducción de Cr (VI) a Cr (III) principalmente por los compuestos de carbono. Estas reacciones son termodinámicamente espontáneas y tanto la oxidación como la reducción pueden llevarse a cabo en un mismo suelo. (Bartlett y James 1979).

En los suelos el Cromo está presente principalmente en la forma  $[Cr(OH)_3(aq)]$  o como Cr (III) adsorbido a los componentes del suelo. Esto controla su lixiviación hasta los cuerpos de agua y su toma por parte de las plantas. Los iones  $CrO_4^{2-}$  y  $HCrO_4^-$  son las formas más móviles de Cr (VI) en el suelo, siendo el  $HCrO_4^-$  la forma dominante en suelos ácidos con  $pH < 6$ . Estas especies pueden ser tomadas por las plantas o fácilmente lixiviadas, a través del perfil del suelo,

hasta los cuerpos de agua a tal punto de contaminarlas (Calder, 1988); (Handa, 1988).

En la figura 6 se observa que las formas móviles de cromo (VI) pueden ser reducidas por diferentes compuestos orgánicos y catalizada por especies como el Fe (II) o  $S^{2-}$ , mientras que, la oxidación Cr (III) puede ser realizada sólo con la mediación de ácidos fulvicos o citratos, este proceso de oxidación sucede principalmente por el manganeso (III, IV) el cual queda en su forma divalente para ser fácilmente oxidado por oxígeno, con el fin de producir nuevamente  $MnO_2$ .



**Figura 6. Ciclo oxido-reducción del cromo en suelos. Tomada de James y Bartlett (1988) y James (1996).**

De manera general, se considera que la movilidad de los metales pesados es muy baja, quedando acumulados en los primeros centímetros del suelo (hasta 40 cm) y pueden ser lixiviados a los horizontes subsuperficiales en muy pequeñas cantidades. Es por ello que la presencia de altas concentraciones en el horizonte superficial seguida de un drástico decremento a los pocos centímetros de profundidad es un buen criterio de diagnóstico de contaminación antrópica; esto provoca en la biota edáfica y en las plantas, cambios morfológicos, en su bioquímica, actividades enzimáticas y la reproducción (Cervantes y Moreno Sánchez, 1988).

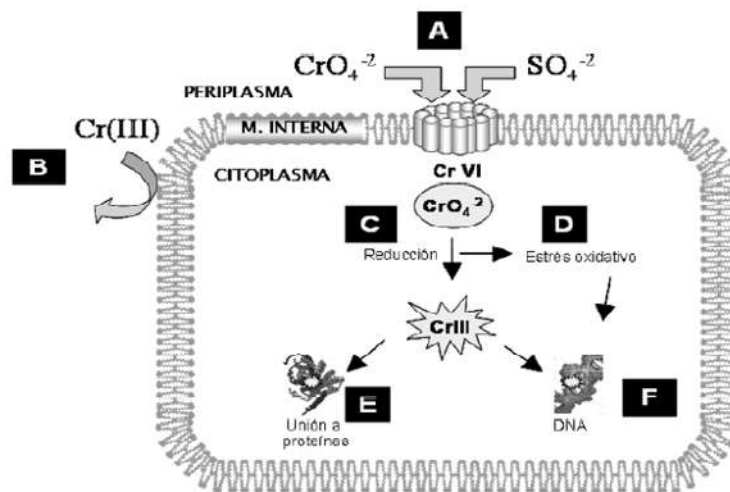
Las cantidades totales presentes en un suelo constituyen una medida poco representativa de la posible toxicidad de un metal pesado, por lo que debe conocerse la forma química bajo la que se presenta, la especiación, pues la toxicidad de un elemento es muy distinta dependiendo de ésta, que va a regular

no sólo su disponibilidad (según se encuentre disuelto, adsorbido, ligado o precipitado) sino que también el grado de toxicidad que presente va a depender de la forma química en sí misma (Cicerone *et al.* 2006; Abollino *et al.* 2002).

La movilidad del cromo es muy limitada y depende del contenido de arcillas del terreno y, en menor medida, de la presencia de óxido de hierro,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , y materia orgánica. El cromo puede adsorberse irreversiblemente a la matriz de suelos, de forma totalmente no disponible para animales o plantas. En medios reductores, como los provocados por la inundación de los terrenos y la descomposición de materia vegetal, el cromo (II) puede formar complejos, lo que aumenta su solubilidad y movilidad (Sotelo-Muñoz 2012).

#### 1.4.2. Toxicidad del cromo

En el interior de la célula, la toxicidad del Cr se relaciona principalmente con el proceso de reducción del Cr (VI) a estados de oxidación inferiores [como Cr (V) y Cr (III)] (Fig. 7C). Este proceso puede ocasionar la formación de radicales libres, generando estrés oxidativo (Fig 7D) y en consecuencia diversos efectos tóxicos en el DNA, lípidos y en proteínas. (FIG 7E y 7F). Se considera que el daño oxidativo al DNA es responsable de los efectos genotóxicos causados por el cromato (Luo *et al.* 1996).



**Figura 7. Transporte y toxicidad del cromato en la célula bacteriana.** A) Captación del Cr (VI) [ $\text{CrO}_4^{-2}$ ] a través del sistema de transporte del sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ). B) Las membranas biológicas son impermeables al Cr (III) por lo que este resulta inocuo extracelularmente. C) Reducción intracelular de Cr (VI) a Cr (III). D) estrés oxidativo causado por la generación de especies reactivas de oxígeno como consecuencia de la reducción de Cr (VI). E) Daño ocasionado por la interacción del Cr (III) con las proteínas o F) con el DNA. Modificado de Ramírez-Díaz y col. (Riley *et al.* 1992).

### 1.4.3. Efectos tóxicos del cromo en plantas

Los componentes del cromo son altamente tóxicos a las plantas y son perjudiciales sobre su crecimiento y desarrollo. Aunque algunos cultivos no son afectados a bajas concentraciones de Cr ( $3.8 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ ) (Huffman y Allaway 1973), el Cr es tóxico en muchas plantas superiores a  $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$  en peso seco (Davies *et al.* 2002). Los progresivos estados de necrosis y clorosis son síntomas de toxicidad de cromo en plantas (Hauschild 1993), así como la reducción del contenido de proteínas y la inactividad de la nitrato reductasa (Vajpayec 1999). También existe la formación de micronúcleos y aberraciones cromosómicas, debido a la retención del metal (Minissi *et al.* 1998; Rank y Nielsen 1998; Wang 1999).

### 1.4.4 Captación, translocación y acumulación del Cromo.

La primera interacción del Cr con la planta es durante el proceso de internalización. Los efectos tóxicos del Cr son primeramente dependientes de la especiación del metal, la cual determina su captación, translocación y acumulación (figura 8). La ruta de transporte del Cr(VI) es un mecanismo activo que involucra acarreadores de aniones esenciales tal como el sulfato (Cervantes *et al.* 2001). Se ha reportado que el hierro, azufre y fósforo, compiten con el Cr (Wallace *et al.* 1976). El uso de inhibidores metabólicos disminuye la captación del Cr (VI), pero no afecta la captación de Cr (III), indicando que la captación de Cr (VI) depende de la energía metabólica y no la del Cr (III) (Skeffintong *et al.* 1976).

Según Golovatyj *et al.* (1999) la mayor concentración del Cr se encuentra en las raíces y es menor en las estructuras aéreas vegetativas y reproductivas. La razón de la alta acumulación del Cr en las raíces es porque éste es inmovilizado en las vacuolas de las células de las raíces, haciéndolo menos tóxico. Desde que el Cr (VI) y el Cr (III) cruzan la endodermis vía simplasto, el Cr (VI), en las células se reduce a Cr (III), el cual es retenido en las células del córtex bajando las concentraciones de Cr (VI), lo que en parte podría explicar la baja toxicidad de Cr (III). Las enzimas que reducen el Cr (VI) han sido reportadas ampliamente en bacterias y hongos (Cervantes *et al.* 2001).

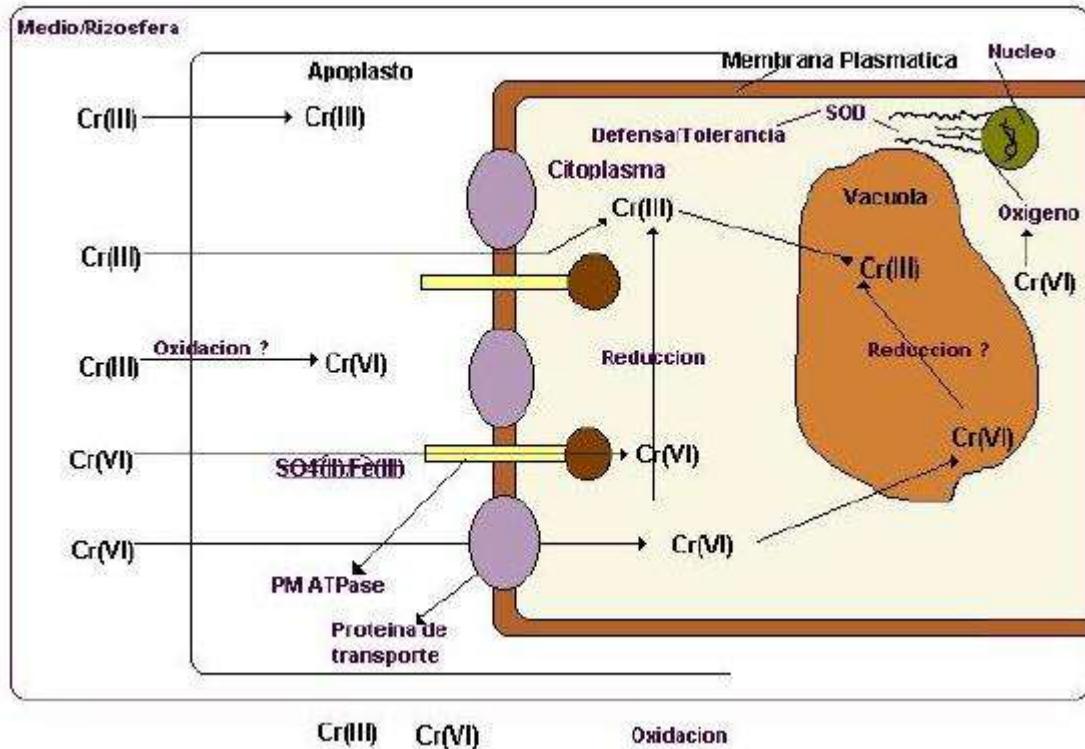


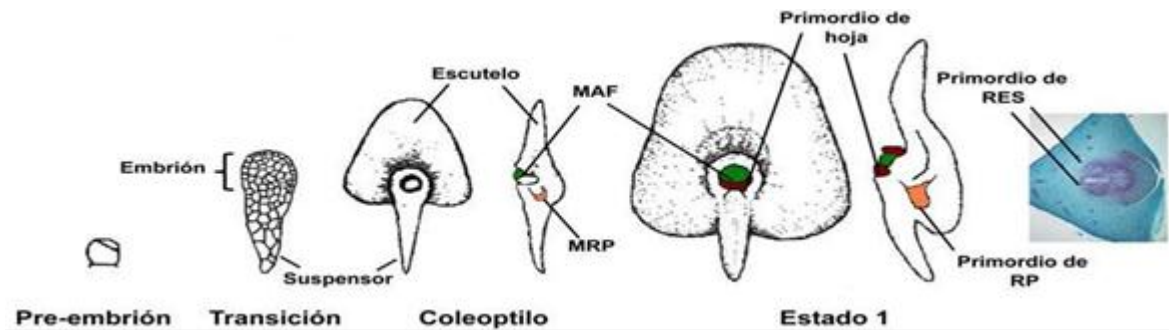
Figura 8.- Modelo hipotético de transporte y toxicidad de Cromo en raíces. Tomada de Ortiz-Castro (2005).

### 1.5 EL MAÍZ (*Zea mays*).

El maíz es una especie monocotiledónea que pertenece a la familia *Poaceae*, de gran valor comercial y cultural en Mesoamérica. Recientemente, el maíz se ha establecido como un organismo modelo en la investigación básica para generar información sobre la biología de los cereales (Demostrables y Scanlon 2009). El ciclo de vida del maíz puede dividirse en dos grandes etapas: i) un estadio vegetativo y ii) la fase reproductiva. La primera, comprende desde la germinación hasta la emergencia de las inflorescencias masculinas (panoja), mientras que la etapa reproductiva involucra el desarrollo de las inflorescencias femeninas (espigas). Posteriormente la polinización de las espigas da lugar a la formación de los granos de la mazorca (Monasterio *et al.* 2007).

La raíz del maíz al igual que en otras plantas, participa en la captación de agua y nutrientes del suelo, además provee soporte estructural y es el sitio de interacción con factores bióticos y abióticos que con frecuencia determinan la productividad del cultivo (Liedgens *et al.* 2000; Hochholdinger *et al.* 2004a; López-Bucio *et al.* 2003). El desarrollo del sistema radicular del maíz puede ser

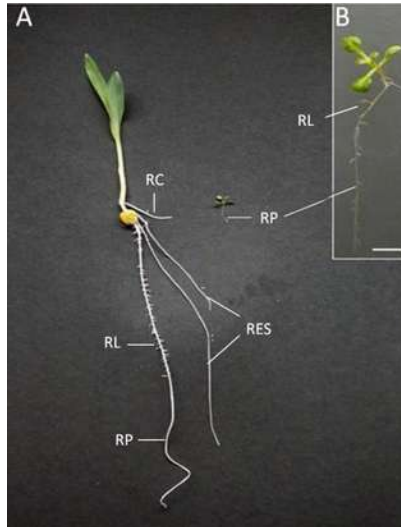
embrionario y post-embrionario. El primero ocurre por una serie de divisiones asimétricas en las células del cigoto dando lugar a la formación del suspensor y al embrión. Después de las divisiones antes indicadas aparece el eje embrionario formado por el meristemo apical-foiar y radicular en el coleoptilo. Finalmente, se desarrollan estructuras embrionarias tales como el primer primordio de la hoja, la raíz primaria (RP) y las raíces escutelares seminales (RES) (Fig. 9) (Chandler *et al.* 2008; Nardmann y Werr 2009; Sheridan y Clark 1994).



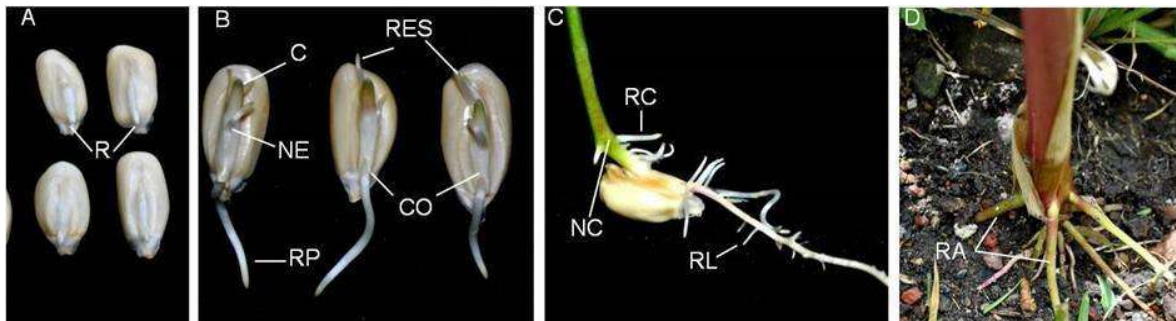
**Figura 9. Representación esquemática del desarrollo embrionario de la raíz primaria y de las raíces escutelares seminales en maíz.** Formación de los diferentes tejidos y órganos a partir de las divisiones asimétricas del cigoto en el estado embrionario.

La raíz del maíz muestra una estructura radicular compleja comparada con el sistema radicular más simple de *Arabidopsis thaliana* (Fig. 10). En el primer caso, las raíces se forman endógenamente en el embrión y consisten de la raíz primaria y de las raíces escutelares que aparecen durante la germinación. Las raíces escutelares seminales son una parte importante para la captación inicial de agua, nutrientes y para el establecimiento de la plántula en el suelo. Las raíces post-embrionarias se forman después de la germinación y continúan creciendo hasta formar un sistema radicular altamente ramificado en las plantas adultas. El sistema radicular post-embrionario está formado por raíces de corona o nodales (RC) y de raíces aéreas (RA) que surgen tardíamente en los nodos del tallo (Fig. 11). (Singh *et al.* 2010; Hochholdinger y Feix 1998).

Las raíces laterales (RL) emergen de los diferentes tipos de raíces (Hochholdinger *et al.*, 2004b). Las raíces escutelares y las raíces de corona forman la estructura de anclaje de la raíz, mientras que las raíces laterales aumentan el área de absorción en el suelo (Grzesiak, 2009).



**Figura 10. Fotografía comparativa de la plántula de maíz (*Zea mays*) (A) y *Arabidopsis thaliana* (B) de 14 días de edad.** Las fotografías muestran la complejidad de la arquitectura de la raíz de la plántula de maíz comparada con *A. thaliana*. RP:Raíz primaria; RES: Raíz escutelar seminal; RC:Raíz de corona; RL: Raíz lateral. Fotografía adaptada de Hochholdinger y Zimmermann (2008).



**Figura 11. Desarrollo del sistema radicular del maíz. Notar la emergencia de los diferentes tipos de raíces.** (A) Germinación de semillas por 48 hrs, se puede apreciar la salida de la radícula (R). (B) A los tres días de edad se puede observar la emergencia de la raíz primaria (RP) a través de la coleorhiza (CO) y de las raíces escutelares seminales (RES) que se desarrollan a partir del nodo escutelar (NE). (C) A los ocho días de edad se observa la formación de las raíces de corona o nodales (RC) en el nodo del coleoptilo (NC) y de raíces laterales sobre la RP. (D) A las seis semanas de edad se aprecia la formación de las raíces aéreas (RA) en los nodos del tallo.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

El maíz es una planta de crecimiento rápido, de la cual existen diferentes variedades e híbridos para las diferentes condiciones climáticas del país, por lo que puede ser útil para propósitos de biorremediación. La interacción del Cr con nutrientes minerales en las plantas es un aspecto importante que puede ser estudiado en condiciones de suelo para establecer condiciones favorables tanto para el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz, como para la captación del metal, para removerlo de sitios potencialmente peligrosos para humanos y otras especies biológicas.

## **3. HIPÓTESIS**

El maíz (*Zea mays*) es una planta que tiene la tolerancia suficiente para captar el cromo durante su crecimiento en suelo y estas propiedades son favorecidas mediante suplementos con nutrientes minerales.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Establecer condiciones favorables para la captación y movilización de Cromo en plantas de maíz (*Zea mays*), en suelos suplementados con nutrientes minerales.

### **4.2. Objetivos específicos**

- a) Determinar la tolerancia del maíz (*Zea mays*) al Cr(VI) durante su desarrollo en suelo suplementado con nutrientes minerales.
- b) Evaluar el efecto de suplementos de fosfato, sulfato, nitrato y hierro en la captación de Cr (VI) en plantas de maíz.
- c) Evaluar el efecto del fosfato, sulfato, nitrato y hierro en la movilización del Cr de la raíz a la parte aérea.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 PRUEBA “*IN VITRO*” DE GERMINACIÓN Y UNIFORMIDAD DE TALLA**

#### **5.1.1. Material biológico**

Se utilizaron semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido Puma PT3 Poncho (en adelante llamada sólo como Puma), Albatros y Canelo, debido a que estas variedades presentan un alto porcentaje de germinación, además de su homogeneidad genética para el primer diseño experimental y así determinar la semilla para utilizarse en el segundo diseño.

#### **5.1.2. Preparación de semillas**

Las semillas se sometieron a una desinfección, utilizando cloro comercial Cloralex® al 50% v/v por 7 minutos, con agitación constante de los tubos de plástico Corning®, pasado este tiempo se desechó el cloro y se agregó alcohol etílico incubando durante 15 minutos manteniendo en agitación constante, finalmente se desechó el alcohol y se hicieron 7 lavados con agua desionizada estéril.

#### **5.1.3. Germinación de semillas, crecimiento y selección de plantas**

Las semillas fueron sembradas en placas Petri con medio de cultivo MS 0.2x (Murashige y Skoog 1962), suplementado con 1% de sacarosa y con 1% de agar. Se incubaron en una cámara de crecimiento (Percival AR95L) y seis días después se seleccionaron sólo aquellas con un tamaño aproximado de 2 cm.

#### **5.1.4 Diseño experimental**

Consistió en 5 cajas Petri y cada caja con tres semillas dando un total de 15 semillas por cada tipo de maíz híbrido. En la figura 12 se presenta el esquema del diseño experimental

### 5.1.5 Esquema de la metodología



**Figura 12. Diseño experimental de la prueba in vitro de germinación y uniformidad de talla.**

## 5. 2. PRUEBA “*IN VITRO*” DE TOLERANCIA AL CROMO

El material biológico consistió en las variedades de maíz Puma PT3 Poncho y Albatros.

Las condiciones de preparación de semillas y germinación fueron las mismas que la sección 5.1.

### 5.2.1. Tratamientos y diseño experimental

En el experimento se utilizaron 9 tratamientos, con concentraciones de cromato de potasio de 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 y 1000  $\mu\text{M}$ , cada uno con 6 repeticiones. En la figura 13 se presenta el esquema del diseño experimental.



**Figura 13. Diseño experimental de la prueba de tolerancia “*in vitro*” de las plantas de maíz.**

### 5.2.2. Índice de tolerancia (TIN)

Para obtener el Índice de Tolerancia (TIN) se tomó como referencia el peso fresco. Los pesos frescos de las plantas crecidas los medios contaminados con cromo fueron expresados como porcentaje del crecimiento en el suelo control a fin de determinar el Índice de tolerancia de las mismas. La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\text{TIN} = \frac{\text{Peso fresco promedio plantas en suelo con metales} * 100}{\text{Peso fresco promedio plantas en suelo control}}$$

### 5.3. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

Para este proyecto se utilizó la capa arable del suelo de Tiripetío, Michoacán, ya que es un suelo representativo del centro el país.

#### 5.3.1. Curva de humedad del suelo en invernadero

Se utilizaron 18 macetas con 100 gr de suelo, sólo 15 se saturaron y 3 no, se llevaron al invernadero y se midió el contenido de humedad en intervalos de 24 horas.

#### 5.3.2. Características del suelo

En el laboratorio de Edafología de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana se determinaron los parámetros especificados en la tabla 4.

PARÁMETRO	MÉTODO
<b>ANÁLISIS FÍSICO</b>	
TEXTURA DEL SUELO	DE BOUYOUCOS
DENSIDAD APARENTE	VOLUMÉTRICO
DENSIDAD REAL	PICNÓMETRO
HUMEDAD DEL SUELO	GRAVIMÉTRICO
<b>ANÁLISIS QUÍMICO</b>	
MATERIA ORGÁNICA	DE OXIDACIÓN CON ÁCIDO CRÓMICO Y ÁCIDO SULFURICO
pH	POTENCIOMÉTRICO
CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO TOTAL (CICT)	VOLUMÉTRICO DEL VERSENATO

**Tabla 4. Análisis realizados en el laboratorio de edafología de la UMSNH.** Se utilizó el “MANUAL DE EDAFOLOGÍA DE ANÁLISIS DE SUELOS” (Muñoz *et al.* 2013).

El contenido de los elementos más importantes del suelo se determinó a través de la empresa FERTILAB S.A. de C.V. ubicada en la ciudad de Celaya, Guanajuato.

## 5.4. CRECIMIENTO DE PLANTAS DE MAÍZ CRECIDAS EN SUELO SUPLEMENTADO CON NUTRIENTES MINERALES

### 5.4.1. Material biológico

Se utilizaron semillas del maíz híbrido Puma PT3 Poncho.

### 5.4.2. Preparación de semillas, germinación y selección de plantas

Se realizó de acuerdo a lo reportado en la sección 5.1.

### 5.4.3. Condiciones de invernadero

Las plantas se crecieron en macetas con 18 Kg de suelo, en un invernadero de 4 X 6 metros, cubierto con malla sombra. La temperatura se mantuvo por debajo de los 30°C durante el día, mediante control por ventilación.

### 5.4.4. Diseño experimental

Consistió en 7 tratamientos, los cuales se muestran en la tabla 4, cada uno con 6 plantas.

TRATAMIENTO	[ ] DE Cr(VI)	[ ] NITRATO	[ ] SULFATO	[ ] FOSFATO	[ ] HIERRO
CONTROL -	0	0	0	0	0
Cr + NUTRIENTES	1 mM 194 ppm	3 mM 303 ppm	3 mM 523 ppm	3 mM 408 ppm	20 µM 3.4 ppm
Cr+NO <sub>4</sub>	1 mM 194 ppm	3 mM 303 ppm	0	0	0
Cr+SO <sub>4</sub>	1 mM 194 ppm	0	3 mM 523 ppm	0	0
Cr+PO <sub>4</sub>	1 mM 194 ppm	0	0	3 mM 408 ppm	0
Cr+Fe	1 mM 194 ppm	0	0	0	20 µM 3.4 ppm
CONTROL +	1 mM 194 ppm	0	0	0	0

**Tabla 5. Suplementos de Cromo y nutrientes en el suelo, para cada tratamiento donde se crecieron las plantas de maíz.**

La fórmula utilizada para la conversión de unidades de concentración molecular a partes por millón ppm es la siguiente:

$$\text{Ppm} = \frac{[\ ] \mu\text{M} \times \text{PM}}{1000}$$

Donde: [ ]  $\mu\text{M}$ , concentración micro molar  
PM, peso molecular de la sustancia

Las macetas con suelo se llenaron a capacidad de campo, evitando el drenado y la lixiviación de nutrientes y el Cromo. Las plantas de maíz germinadas se colocaron en las macetas. Posteriormente, las plantas se regaron cada semana con agua, a capacidad de campo, para evitar la lixiviación. Las plantas se dejaron crecer por 13 semanas en condiciones de invernadero, se cosecharon, para conocer la captación de Cromo y medir el crecimiento biomasa.

En la figura 14 se presenta un esquema de la metodología.

#### **5.4.5. Cuantificación de Cromo en tejidos vegetales**

Las plantas se medieron y se secaron en una incubadora a 70°C por 4 días, manteniendo por separado la parte aérea y la raíz. Se solicitaron los servicios del LANGEBIO, del Campus CINVESTV-IPN, Unidad Irapuato, para determinar la concentración de Cromo mediante la técnica de Espectrometría de masas con ionización por plasma acoplado (IPC).

#### **5.5.5. Índice de tolerancia (TIN)**

El Índice de Tolerancia (TIN) tomando como referencia el peso fresco se calculó de acuerdo a la sección 5.2.2.

El índice de tolerancia tomando como referencia el peso seco se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{TIN} = \frac{\text{Peso seco promedio plantas en suelo con metales} \times 100}{\text{Peso seco promedio plantas en suelo control}}$$

### 5.5.6 Esquema de la metodología

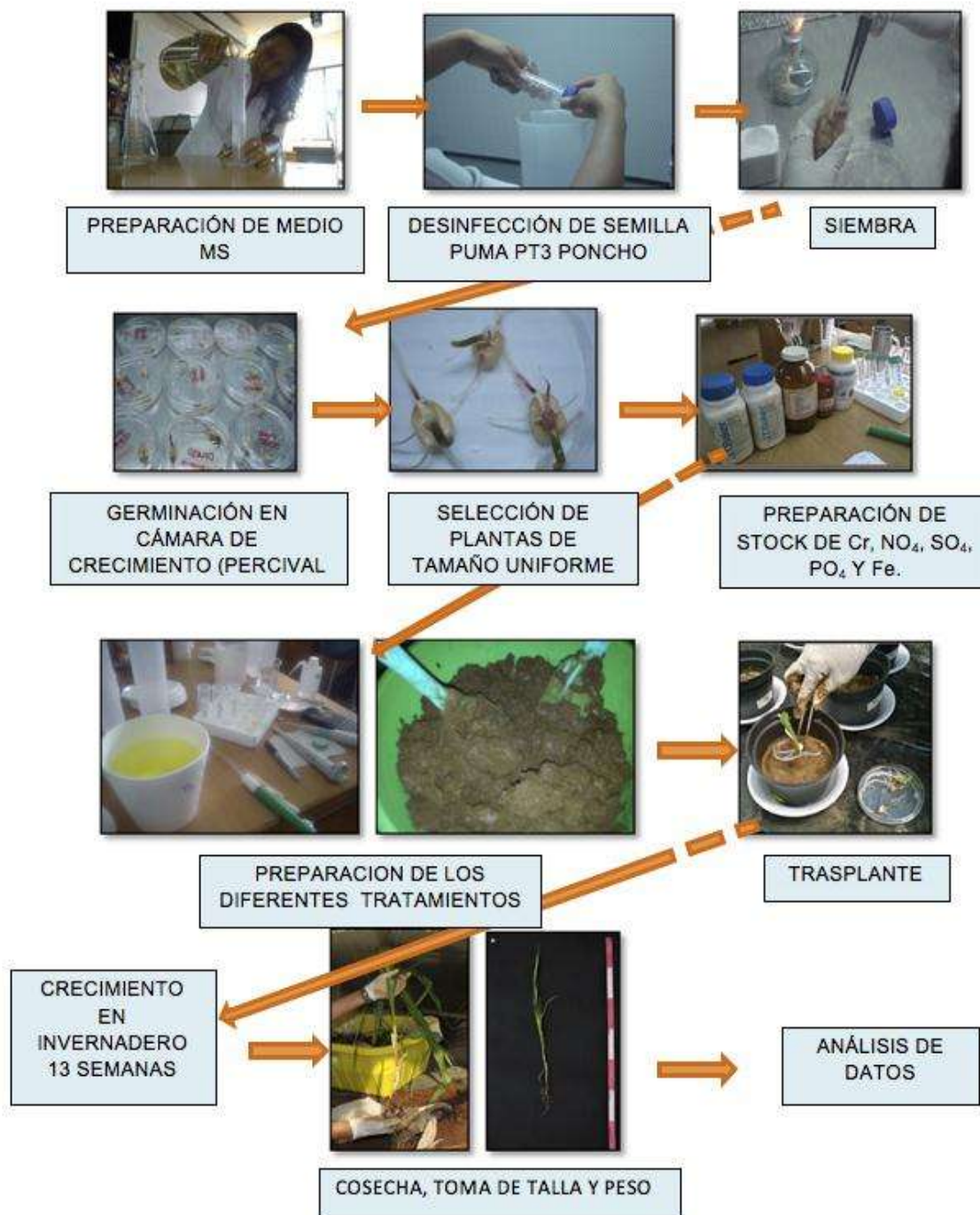


Figura 14. Diseño experimental del crecimiento de las plantas de maíz en suelo y su procesamiento para el análisis de las variables agronómicas, así como la captación de Cromo y nutrientes.

## 6. RESULTADOS

En el presente trabajo se analizó en efecto del Cromo en el crecimiento de plantas de maíz, en condiciones *in vitro* y en suelo, así como el efecto de suplementos de N, P, S y Fe en la captación de Cromo y su movilización de la raíz a la parte aérea.

### 6.1 PRUEBA DE GERMINACIÓN “*IN VITRO*” DE TRES VARIEDADES DE MAÍZ Y LA UNIFORMIDAD DE LA TALLA

Para determinar cuál tipo de maíz sería el adecuado para realizar esta serie de experimentos, fue necesario saber parámetros importantes como el porcentaje de germinación y uniformidad de talla. Por lo anterior, se decidió probar los siguientes tipos de maíz híbridos: PUMA PT3 poncho, Albatros y Canelo que en pruebas anteriores se encontró que son tolerantes al Cromo.

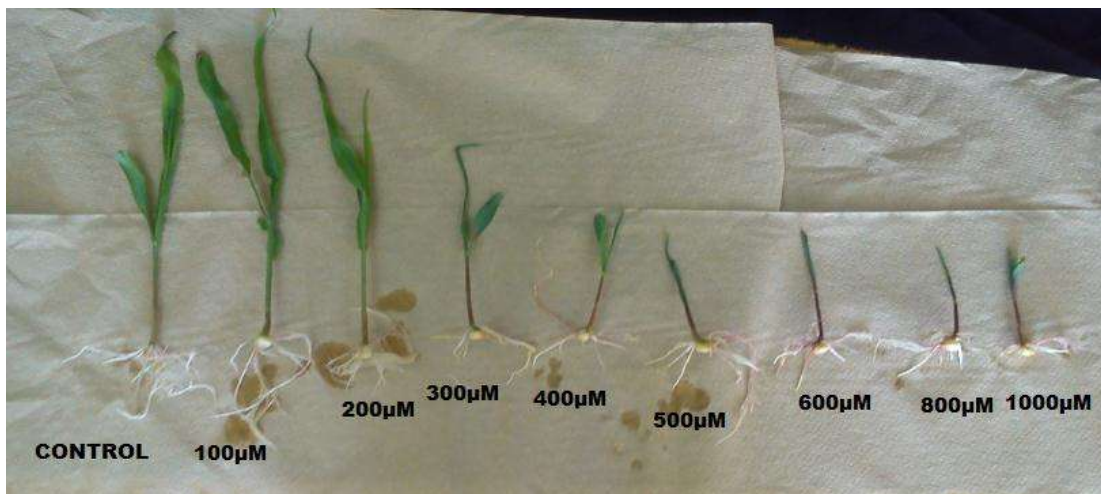
El maíz híbrido PUMA PT3 poncho fue el que obtuvo mejor germinación, seguido del híbrido Albatros y finalmente el híbrido Canelo. En la uniformidad de talla, se presentó el mismo comportamiento. (Tabla 6).

VARIABLE	PUMA PT3 poncho	Canelo	Albatros
Semillas totales	15	15	15
Semillas germinadas	15	12	14
Semillas con la misma talla	15	5	9
Porcentaje de germinación	100	80	93.3
Porcentaje de uniformidad (talla)	100	33.3	60

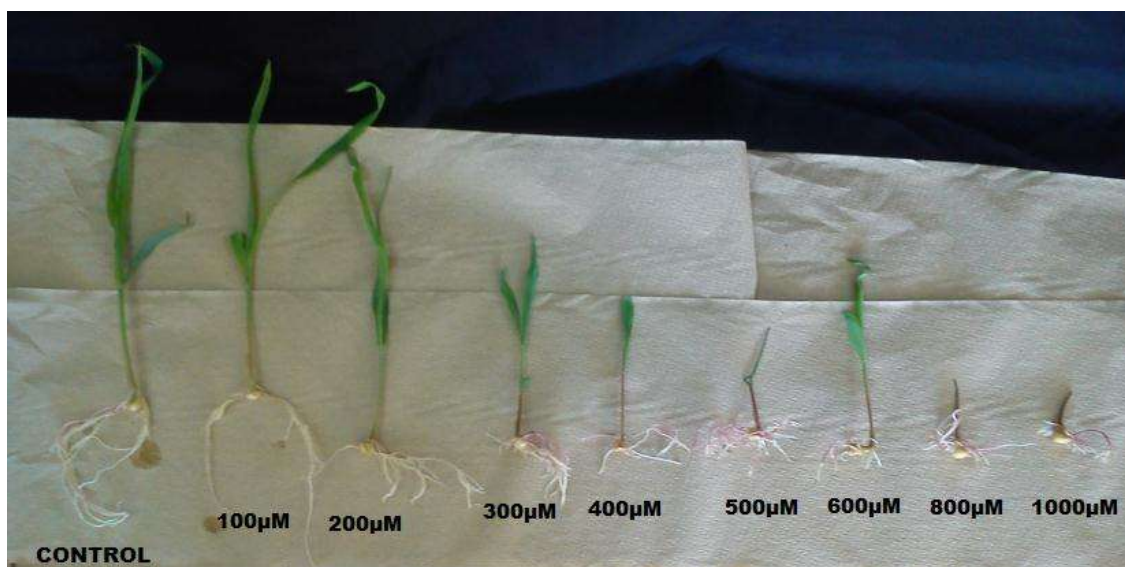
**Tabla 6. Análisis de la germinación y uniformidad de talla en tres variedades de maíz.** Las condiciones utilizadas se describen en materiales y métodos.

## 6. 2. PRUEBA “*IN VITRO*” DE TOLERANCIA AL CROMO

En esta prueba se utilizaron las variedades que presentaron mejor uniformidad de talla, “Puma PT3 Poncho” y “Albatros”. Las semillas germinadas se seleccionaron por tamaño (2 cm) para el trasplante en los medios con diferente concentración de Cromo, de 0  $\mu\text{M}$  a 1000  $\mu\text{M}$ . En las figuras 15 y 16 se muestra el aspecto de plantas representativas colectadas al final del experimento.

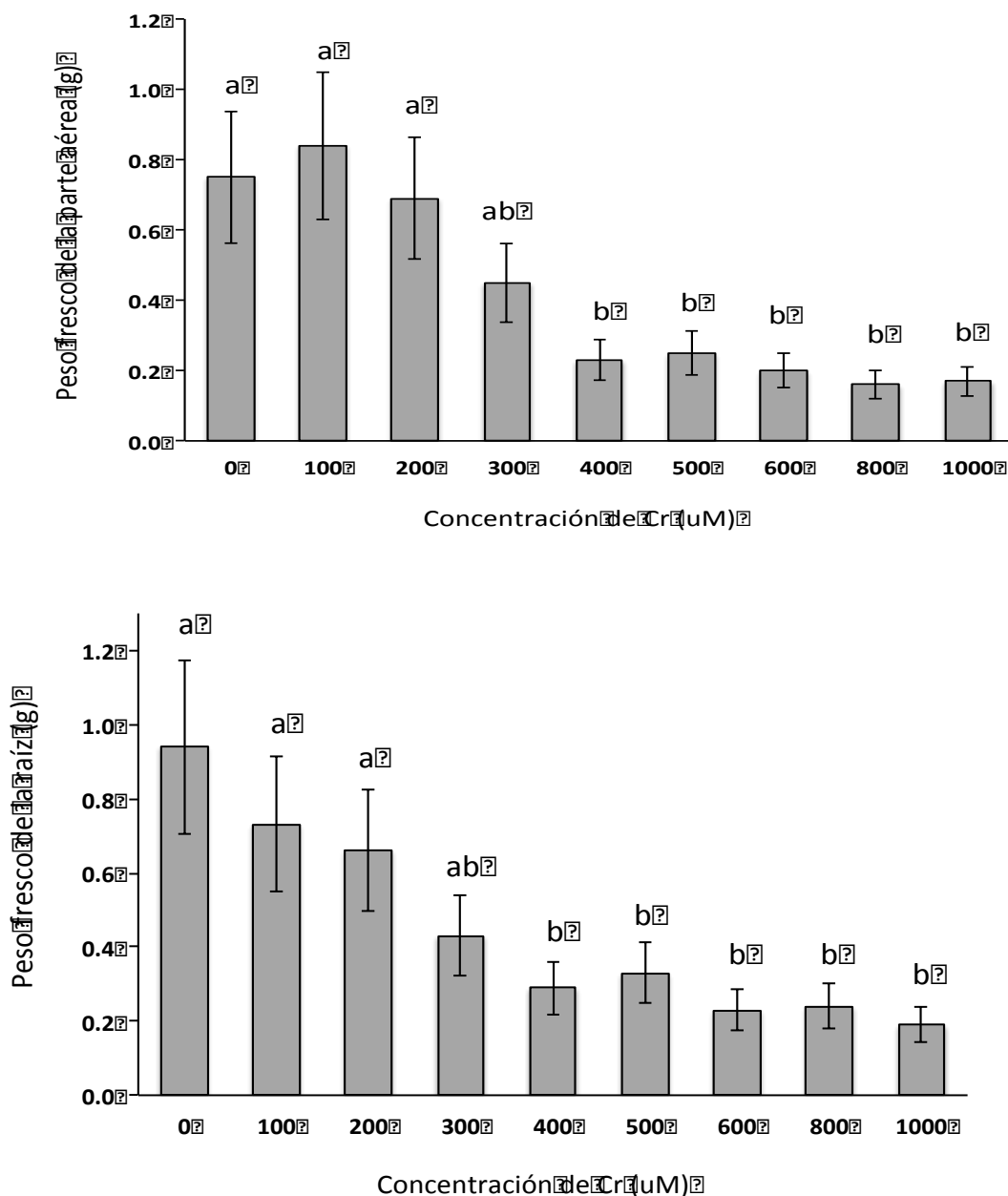


**Figura 15. Plantas de maíz híbrido PUMA PT3 poncho crecidas *in vitro* en medios con diferentes concentraciones de Cromo. Las plantas son representativas de 15 individuos para cada tratamiento.**

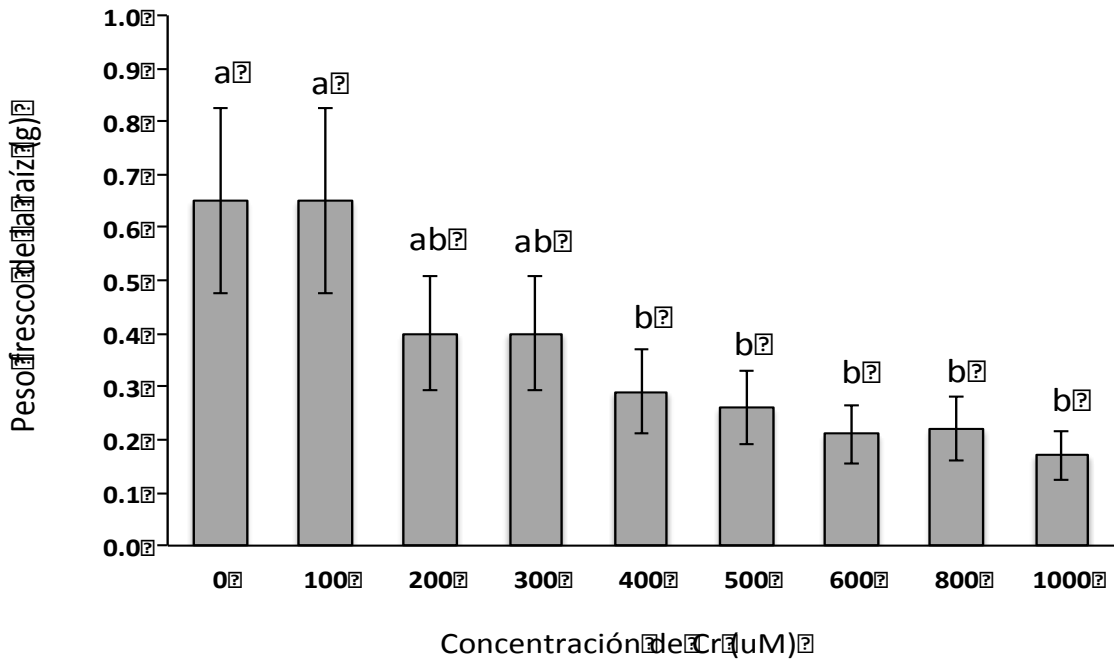
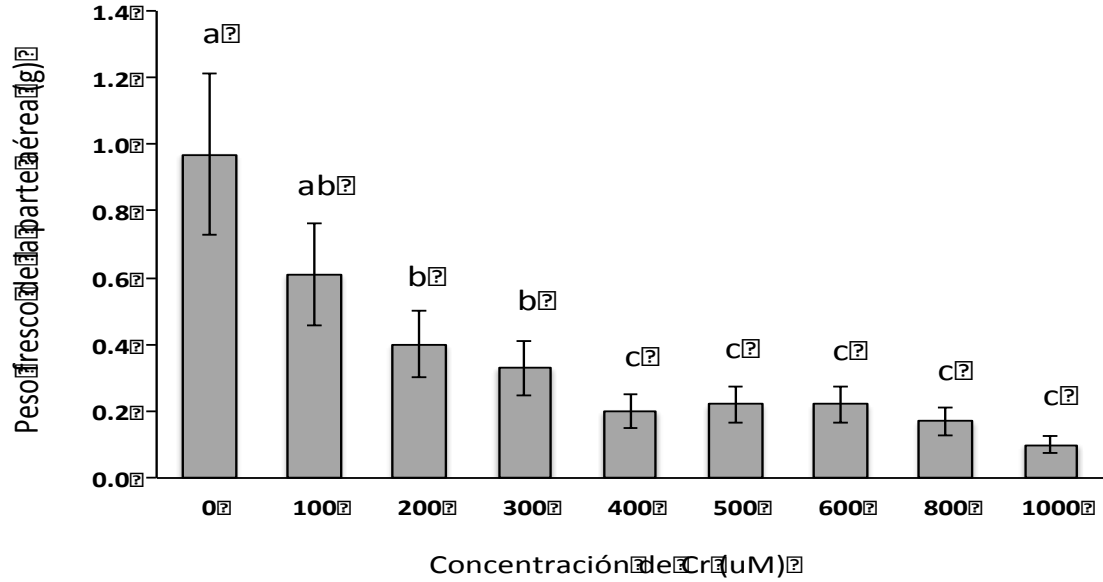


**Figura 16. Plantas de maíz híbrido Albatros crecidas *in vitro* en medios con diferentes concentraciones de Cromo. Las plantas son representativas de 15 individuos para cada tratamiento.**

El peso fresco de las plantas, tanto de la parte aérea como de la raíz se presenta en las figuras 17 y 18, destacando una disminución gradual del peso conforme aumentó la concentración de Cromo. En general, la variedad de maíz Puma PT3 Poncho mostró valores mayores de peso en las concentraciones de 100, 200 y 300  $\mu\text{M}$  de Cromo.

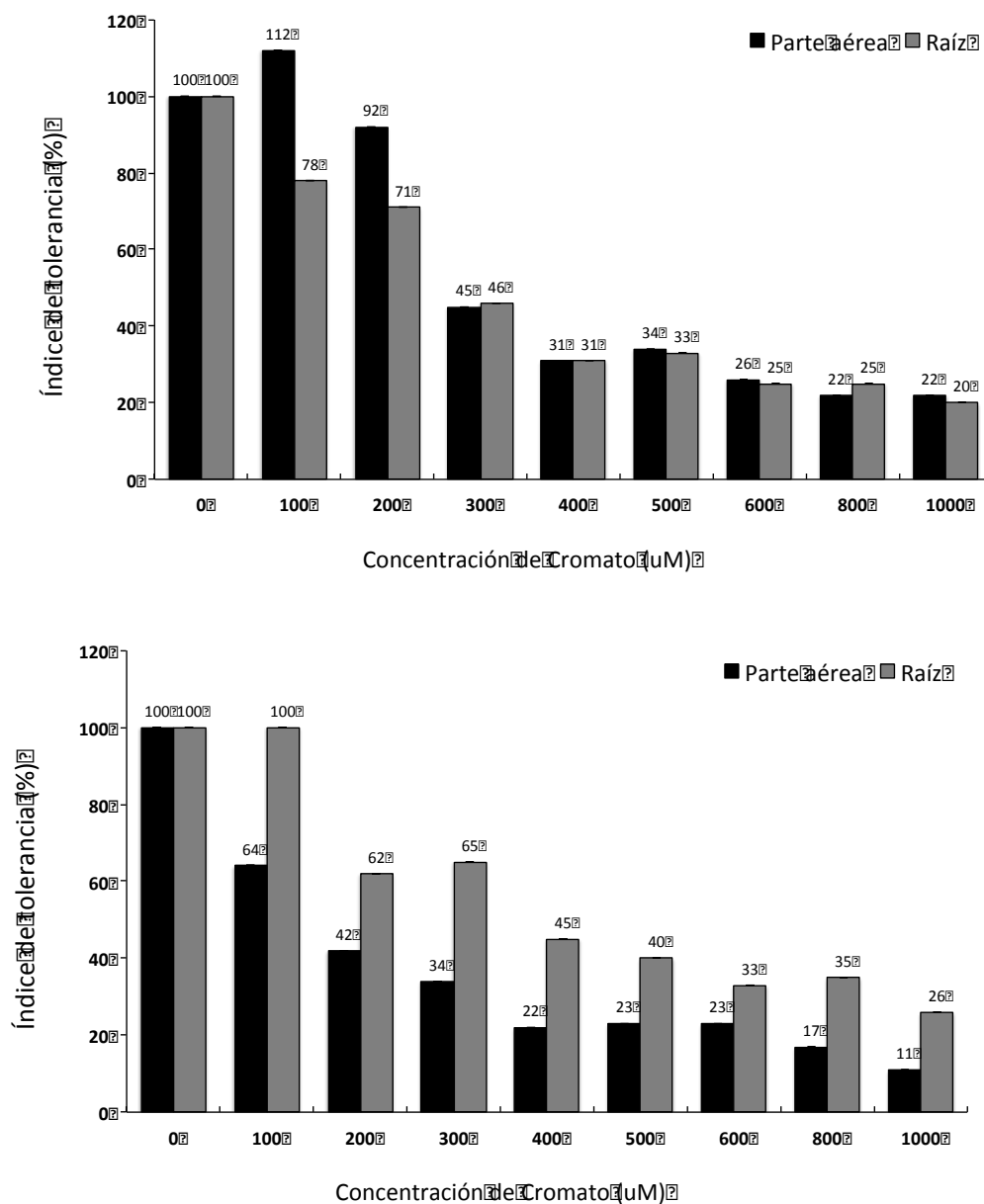


**Figura 17. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de plantas de maíz híbrido PUMA PT3 PONCHO, crecidas *in vitro* en medios con diferentes concentraciones de Cromo.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha < 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 6$ .



**Figura 18. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de plantas de maíz híbrido Albatros, crecidas *in vitro* en medios con diferentes concentraciones de Cromo. Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha < 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 6$ .**

El Índice de Tolerancia obtenido para las dos variedades de maíz, se presenta en la figura 19, siendo mayor para la variedad Puma PT3 Poncho en las concentraciones de 100, 200 y 300  $\mu\text{M}$  de Cromo.



**Figura 19. Índice de Tolerancia (TIN) de plantas de maíz PUMA PT3 poncho, (arriba) y Albatros (abajo), crecidas en diferentes concentraciones de Cromo. Se utilizó el peso fresco para el cálculo del TIN.**

### 6.3 CURVA DE HUMEDAD DEL SUELO EN INVERNADERO

La humedad del suelo es un parámetro fundamental para el buen desarrollo de las plantas, ya que de ésta depende la mejor disponibilidad de nutrientes y en este caso también del Cromo. Para mantener el suelo con suficiente agua, se determinó la pérdida de humedad y se calculó la cantidad de agua que se tuvo que adicionar para mantenerlo a capacidad de campo.

Se llenaron 18 macetas pequeñas con 100 gr de suelo, de las cuales 15 se saturaron con agua, se llevaron al invernadero para evaluar en estas condiciones la pérdida de humedad del suelo en el invernadero. Dando como resultado lo siguiente:

- ④ La muestra de suelo fue saturada y llevada al invernadero, después de 48 horas fue llevada al horno de secado a 105°C para determinar con base en el peso la cantidad de agua presente, la cual fue de 32.34 ml.
- ④ De la misma forma fue valorada la humedad en el suelo sin saturar y el valor fue de 18.75 ml de agua.
- ④ De esta manera se determinó que para que el suelo se mantuviera a capacidad de campo fue necesario agregar 19.51 de agua.
- ④ Para establecer el tiempo de regado, se analizó la pérdida de humedad, lo que permitió determinar que fue conveniente hacer el regado 48 horas (Figura 20).

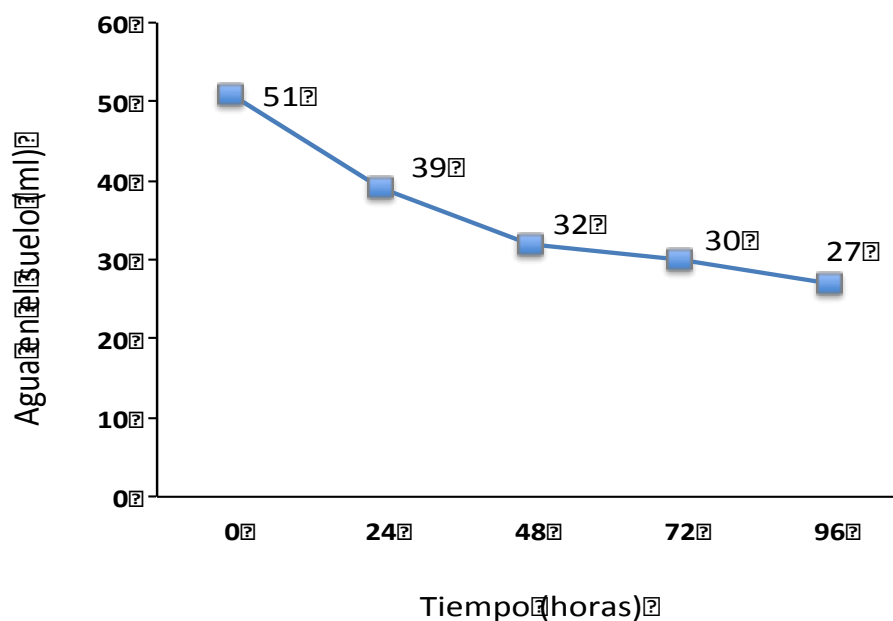


Figura 20. Pérdida de humedad del suelo en invernadero a diferentes horas.

## 6.4 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

En cuanto a los resultados del análisis físico del suelo, se encontró que es de la clase textural franco arenoso, con un buen drenado y aireación para las raíces de las plantas. Asimismo, esta textura al no tener alta cantidad de arcillas, permitió teóricamente que tanto el Cromo como los nutrientes minerales no quedaran fuertemente adsorbidos en las partículas. (Tablas 7 y 8).

### ANÁLISIS FÍSICOS DEL SUELO

TEXTURA							HÚMEDAD DEL SUELO		
Arenas	Limos	Arcillas	Clase textural	Dap	DR	Porosidad	PS	CC	PMP
71.55	11.26	17.18	franco arenoso	0.9358 g cm <sup>3</sup>	2.3624 g cm <sup>3</sup>	60.86%	36.50%	13.90%	6.95%

### ANÁLISIS QUÍMICOS DEL SUELO

Muestra	pH	interpretación	CICT	interpretación
Tiripetio	6.07	Moderadamente ácido	23.04	media

**Tablas 7 y 8. Resultados del análisis físico y químico del suelo de Tiripetío.**

Los resultados de los análisis químicos del suelo mostraron un pH de 6.07, el cual es moderadamente ácido, lo que predice que el Cromo se encuentra de manera predominante como  $\text{HCrO}_4^{-1}$  la cual es una de las formas más móviles del Cromo y por lo tanto hay poca adsorción en las partículas del suelo.

Los resultados de las cantidades de los nutrientes en el suelo se presentan en la figura 19. Algo importante que se puede destacar es la baja cantidad de materia orgánica, lo que en teoría ayudó a que el Cromo no se adsorbiera y se encontrara disponible para las plantas. Con relación a los nutrientes minerales, considerando la cantidad necesaria para la fertilidad del suelo, el azufre y el fósforo se encontraron en bajas cantidades, a diferencia del nitrógeno y el hierro.

La capacidad de intercambio de cationes, de manera general fue moderadamente baja (figura 21).

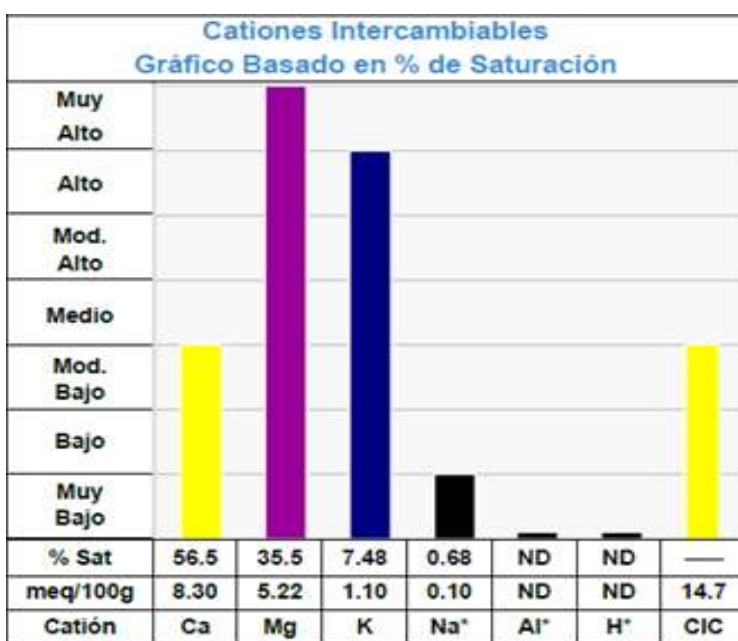
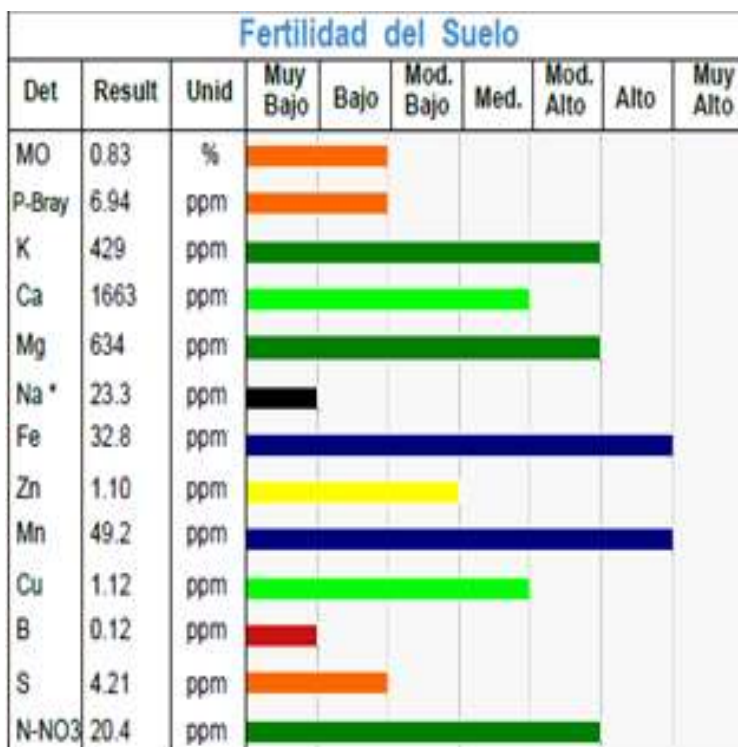


Figura 21. Muestra los resultados del estudio de fertilidad y cationes intercambiables del suelo de Tiripetío.

## **6.5 PLANTAS DE MAÍZ HÍBRIDO PUMA PT3 PONCHO CRECIDAS EN SUELO, CON SUPLEMENTO DE NUTRIENTES MINERALES**

Considerando que las plantas de maíz híbrido Puma PT3 Poncho tuvieron mayor homogeneidad en su crecimiento *in vitro*, mejor porcentaje de germinación y mayor índice de tolerancia al Cromo, con respecto a la variedad Albatros, la variedad Puma PT3 Poncho se utilizó para realizar los experimentos en suelo.

Se germinaron las semillas *in vitro* y se trasplantaron a macetas en suelo, como se describe en materiales y métodos. La concentración de Cromo utilizada fue de 600  $\mu\text{M}$ , ya que mediante pruebas preliminares se determinó que a mayor concentración existió mortandad de plantas. Los tratamientos establecidos fueron: a) Suelo sin ningún suplemento, b) Suelo con Cromo, c) Suelo con Cromo y Nitrato 3 mM, d) Suelo con Cromo y Sulfato, e) Suelo con Cromo y Fosfato, f) Suelo con Cromo y Hierro, y g) Suelo con Cromo y los 4 nutrientes anteriores. Para cada tratamiento se hicieron 6 repeticiones.

Las plantas se mantuvieron con riego cada 48 horas para mantener el suelo a capacidad de campo y se dejaron crecer durante 13 semanas (2 de octubre al 26 de diciembre de 2015).

### **6.5.1. Tamaño y peso de las plantas.**

Para llevar el control del crecimiento de las plantas en el invernadero se tomaron lecturas de la talla de la parte aérea de cada una de las plantas cada semana arrojando los datos mostrados en la figura 20, en ella se observa que el trasplante fue hecho tomando solo aquellas plantas germinadas y de talla uniforme y a medida de que pasan las semanas se empiezan a observar las diferencias logrando ya en la quinta semana un patrón de crecimiento que aunque aumenta la talla el patrón es el mismo hasta la décimo tercer semana que fueron cosechadas para su análisis foliar. A las 13 semanas, las plantas se cosecharon y se determinó el tamaño, peso fresco y peso seco, tanto para la raíz como para la parte aérea (figuras 22 y 23).

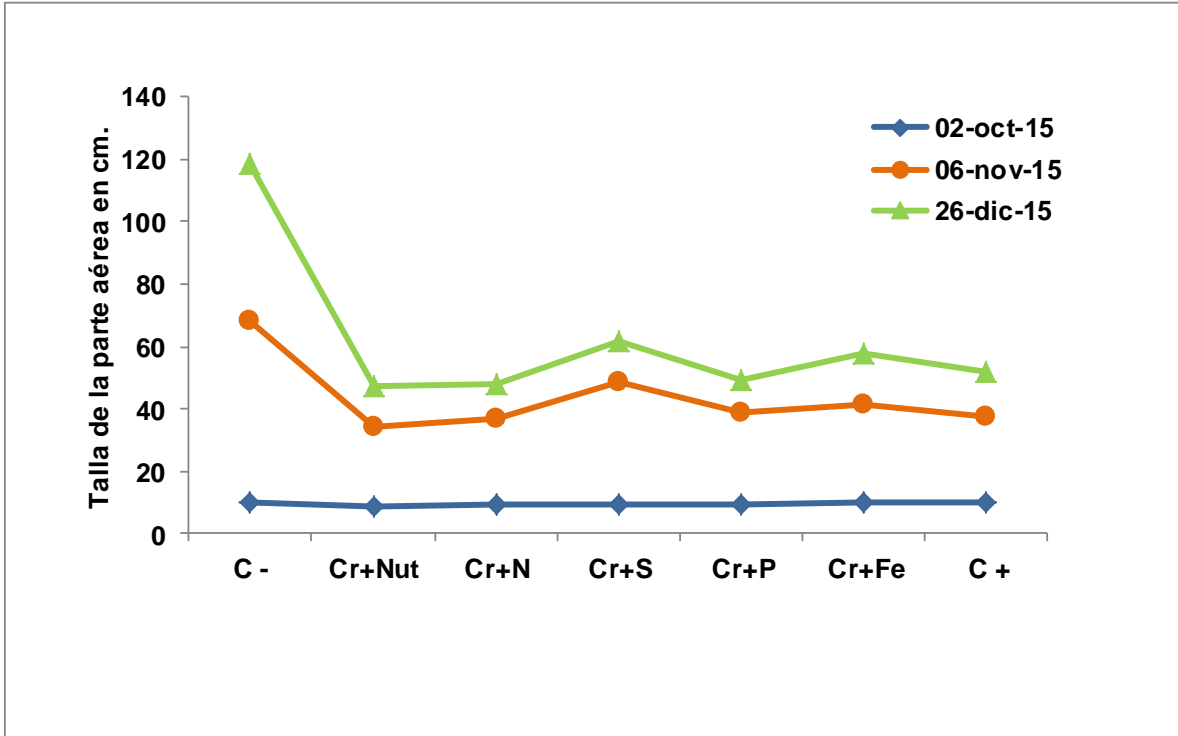


Figura 22. Tallas promedio de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO, tomadas a diferentes semanas de crecimiento en invernadero.

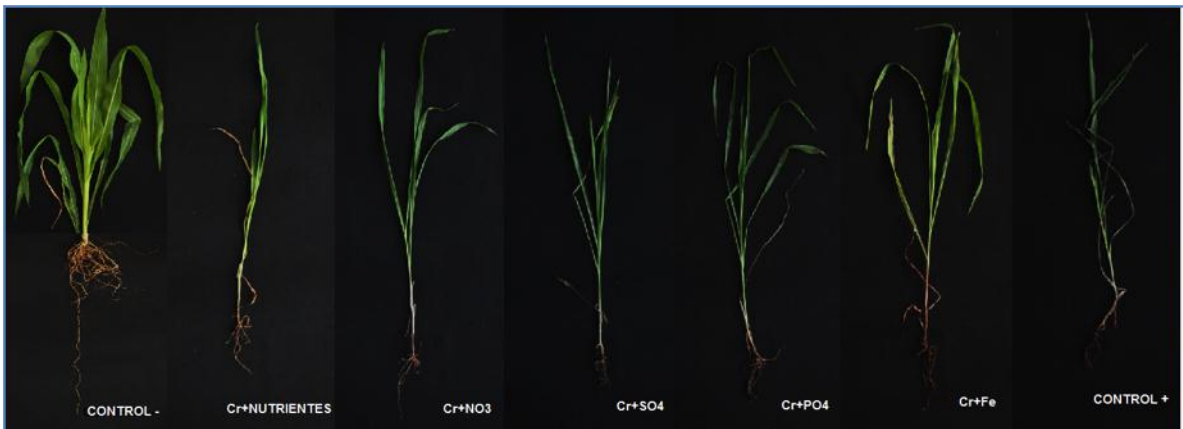
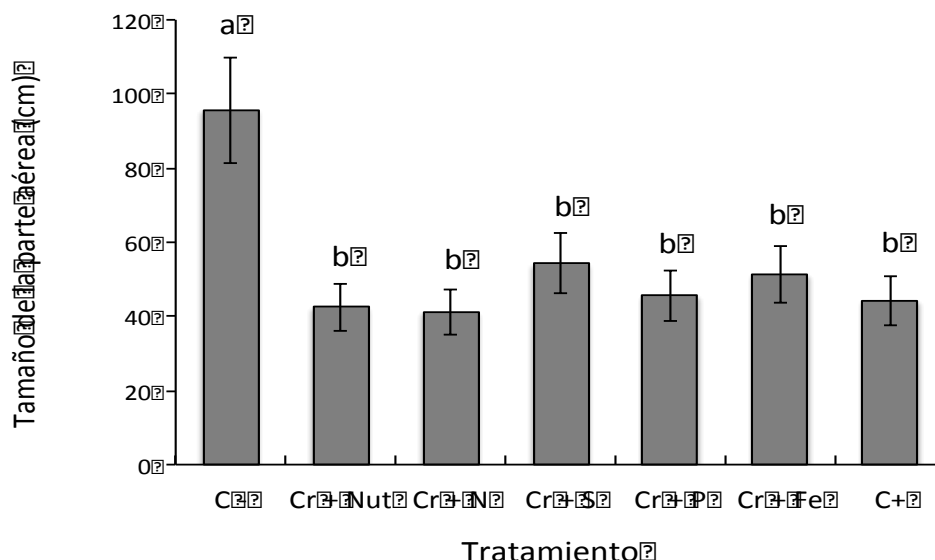


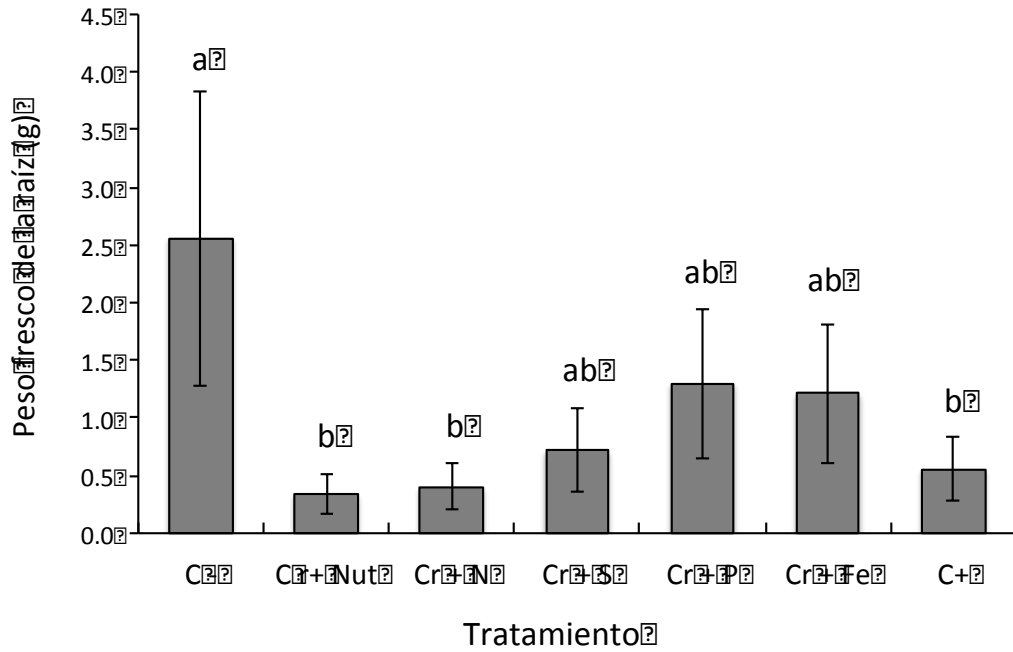
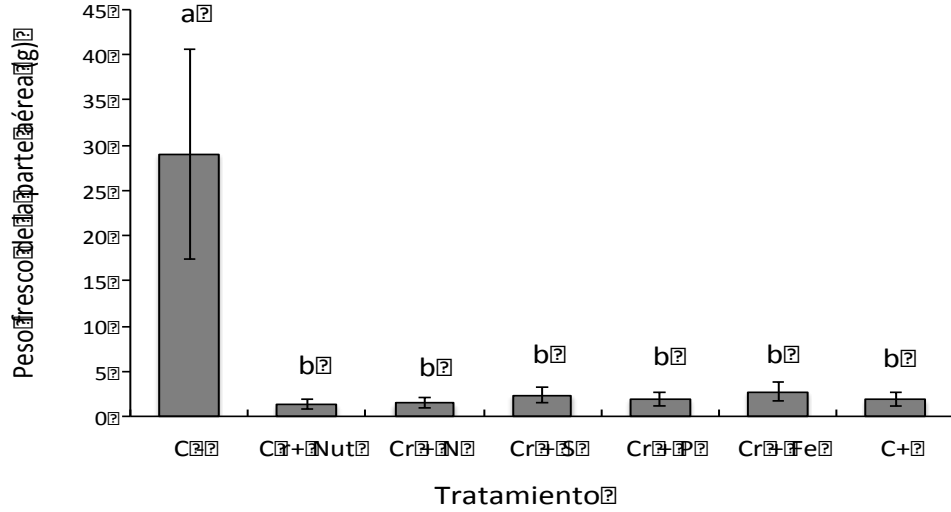
Figura 23. Plantas de maíz híbrido PUMA PT3 PONCHO trasplantadas en suelo contaminado con Cromo a 1mM y suplementados con nutrientes minerales.

El tratamiento con la mayor talla de la parte aérea fue el control negativo, sin suplemento de Cromo, mientras que los tratamientos con Cromo redujeron su crecimiento a la mitad. Entre los tratamientos con Cromo, aunque hubo una tendencia a una mayor talla en los suplementados con sulfato o hierro y menor talla en los suplementados con todos los nutrientes o con nitratos no hubo diferencias estadísticas significativas entre ellos (Figura 24).

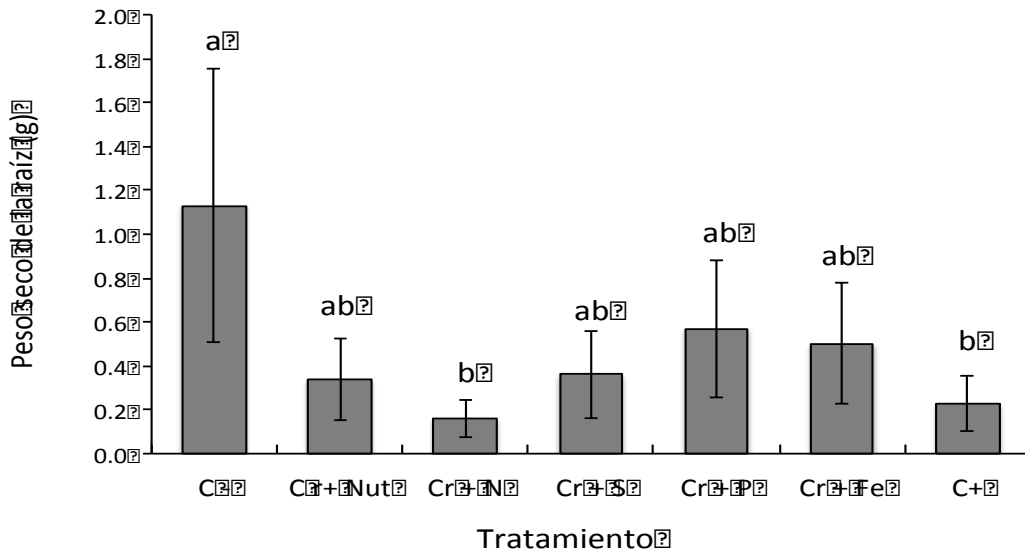
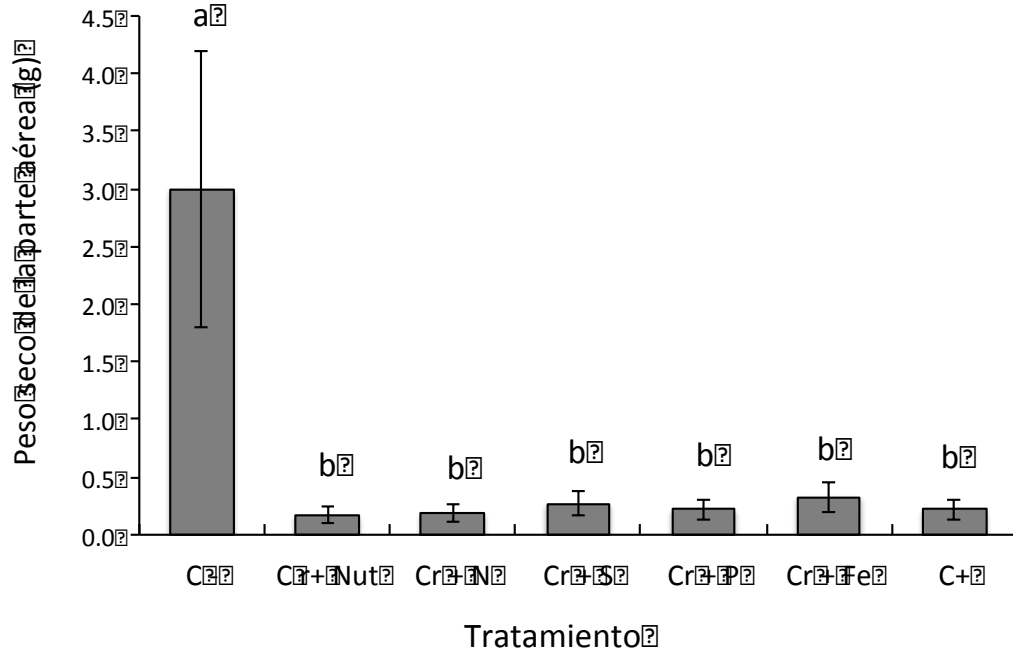


**Figura 24. Talla de la parte aérea de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha < 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 6$ .

En lo que respecta al peso fresco de la parte aérea, nuevamente el control negativo sin Cromo tuvo el mayor valor, mientras que los tratamientos con Cromo redujeron su peso a un 10% o menos con respecto al control negativo; entre los tratamientos suplementados con Cromo no se encontraron diferencias significativas. El peso fresco de la raíz fue mayor en el tratamiento sin cromo con relación a los demás tratamientos; en los tratamientos con Cromo, aunque no hubo diferencias significativas entre ellos, en los que tuvieron suplementos de fosfato o hierro, hubo una tendencia a un mayor peso (Figura 25). El mismo comportamiento mencionado anteriormente, se presentó en el peso seco de la parte aérea y de la raíz (Figura 26).



**Figura 25. Peso fresco de la parte aérea y de la raíz de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha < 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 6$ .



**Figura 26. Peso seco de la parte aérea y de raíz de las plantas crecidas en suelo suplementado con nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha < 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 6$ .

### **6.5.2. Observaciones cualitativas en el crecimiento de las plantas**

Durante periodo de crecimiento de las plantas de maíz, durante 13 semanas, se pudo observar lo siguiente:

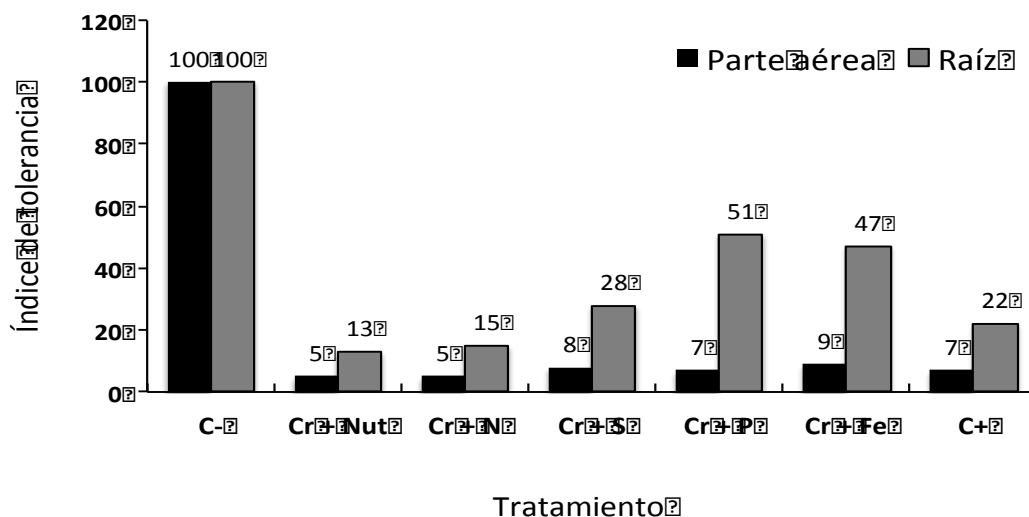
- En la segunda semana después del trasplante se observó clorosis en las primeras hojas de aquellas plantas trasplantadas en el tratamiento positivo a cromo y para la tercera semana se mostraron raquíticas.
- En la sexta semana posterior al trasplante se observó clorosis en las puntas de las primeras hojas en todos los tratamientos excepto el control negativo a cromo.
- En la semana 10 posterior al trasplante emergieron las primeras raíces de corona en las plantas del tratamiento negativo a cromo y en la semana 12 emergieron también en aquellas plantas de los tratamientos suplementados con sulfato, fosfato, hierro y en el control positivo a cromo.

### **6.5.3. Índice de Tolerancia al Cromo de las plantas de maíz Puma PT3 Poncho, utilizando el peso fresco.**

En las plantas cosechadas, se pesaron por separado las raíces y parte aérea para poder determinar el índice de tolerancia (TIN) dado en porcentaje y tomando de referencia el peso fresco, de los datos encontrados se obtuvieron los siguientes valores de TIN para cada tratamiento y parte de la planta, los cuales se presentan en la figura 27.

Los valores más altos de TIN se dan en las raíces alcanzando un TIN más alto que es de un 50.7% en el tratamiento que esta suplementado con fosfatos, le siguieron en orden descendente los tratamientos suplementados con hierro (47.2%), sulfatos (28.2%), nitratos (15.5%), y todos los nutrientes (13.3%). El control positivo con Cromo tuvo una mayor tolerancia (21.9%) que los dos últimos tratamientos mencionados.

En cuanto a la parte aérea los valores de TIN fueron más bajos, siendo el mayor el suplementado con hierro (9.5 %), seguido en orden descendente por los tratamientos suplementados con sulfato (8.2%), fosfato (6.6%), nitrato (4.9%), y todos los nutrientes (4.7%). Al igual que con la raíz, el control positivo con Cromo tuvo una mayor tolerancia (6.5 %) que los dos últimos tratamientos mencionados.



**Figura 27. Índice de Tolerancia (TIN) dado en porcentaje tomando de referencia el peso fresco de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.**

#### **6.5.4. Índice de Tolerancia (TIN) al Cromo de las plantas de maíz Puma PT3 Poncho, utilizando el peso seco.**

Las plantas se trataron como se especifica en la metodología para la cuantificación de cromo y nutrientes. Al obtener su peso seco se evaluó el TIN tomando de referencia este mismo los cuales se muestran en la figura 28.

Los valores más altos de TIN se obtuvieron en las raíces, siendo mayor en el tratamiento suplementado con fosfatos (50.2%), seguido por los tratamientos suplementados con hierro (43.9%), sulfato (31.9%), todos los nutrientes (30.2%), nitrato (14.5%). El control positivo con Cromo tuvo una mayor tolerancia (19.7%) que el tratamiento con nitrato.

En cuanto a la parte aérea los valores de TIN fueron más bajos que en las raíces, siendo el mayor el tratamiento suplementado con hierro (10.8%), seguido por los tratamientos suplementados con sulfato (8.9%), fosfato (7.2%), nitrato (6.4%), y todos los nutrientes (5.5%). El control positivo con Cromo tuvo una mayor tolerancia (19.7%) con relación a los tratamientos suplementados con nitrato o con todos los nutrientes.

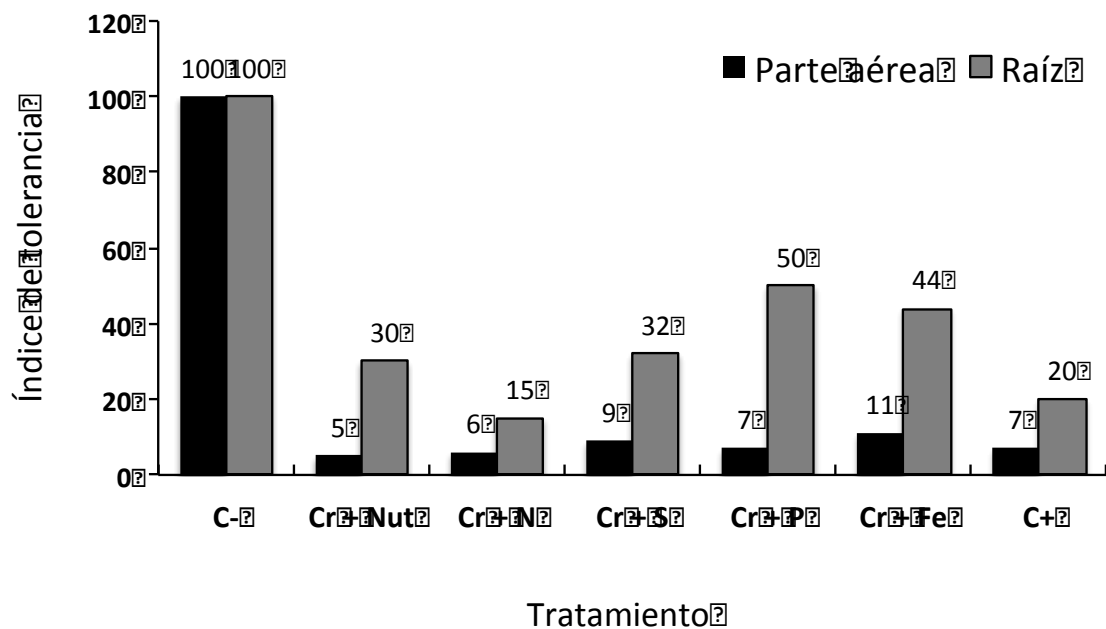
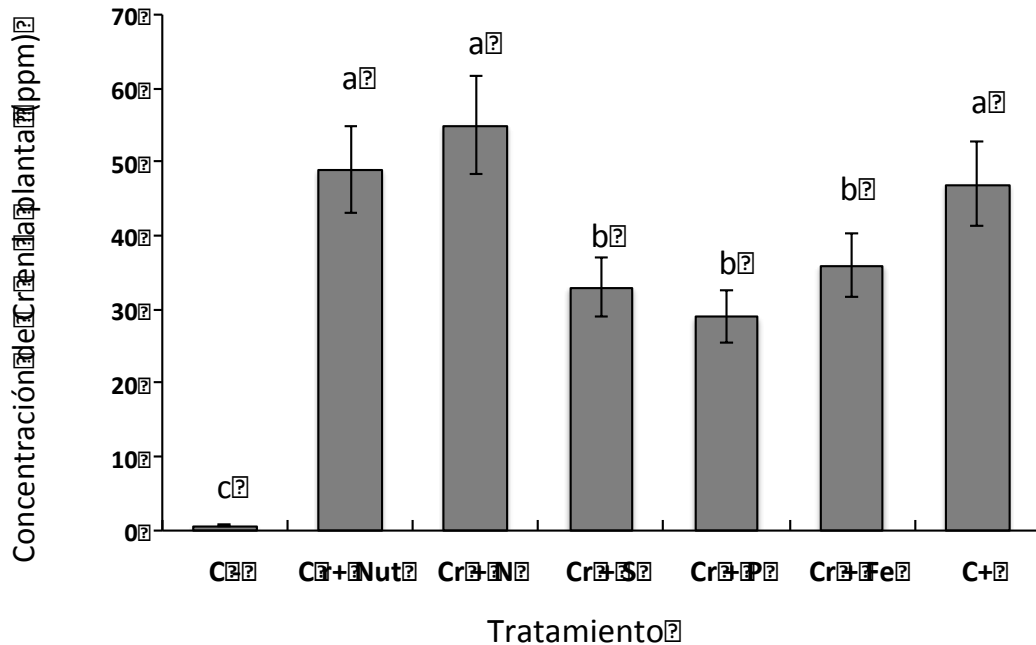


Figura 28. Índice de Tolerancia (TIN) dado en porcentaje tomando de referencia el peso seco de las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.

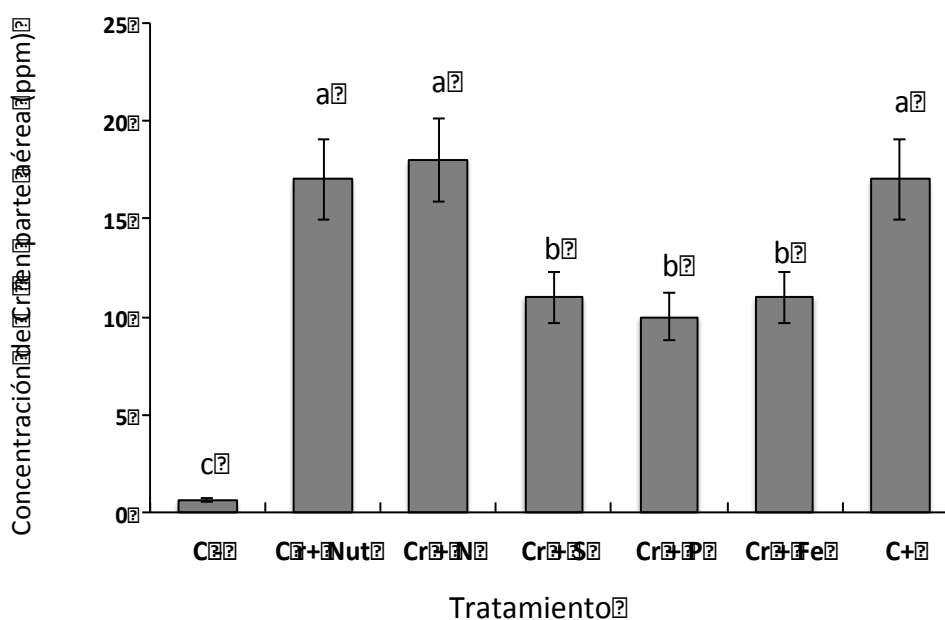
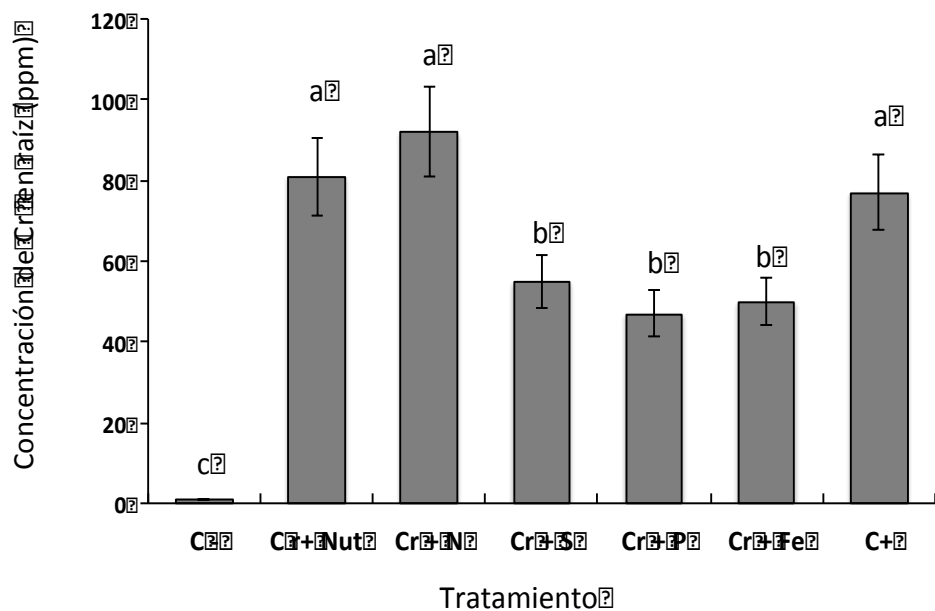
### 6.5.5. Efecto de nutrientes minerales en la captación de Cromo en plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO.

Considerando que la captación del Cromo a partir del suelo es por medio de la raíz, y a partir de allí se moviliza a la parte aérea, se cuantificó el Cromo por separado en cada una de estas estructuras. Los valores obtenidos promedio de Cromo en las plantas se presentan en la figura 29. Se destaca que el suplemento de sulfato, fosfato o hierro conduce a una menor concentración y por lo tanto a una menor captación de Cromo.



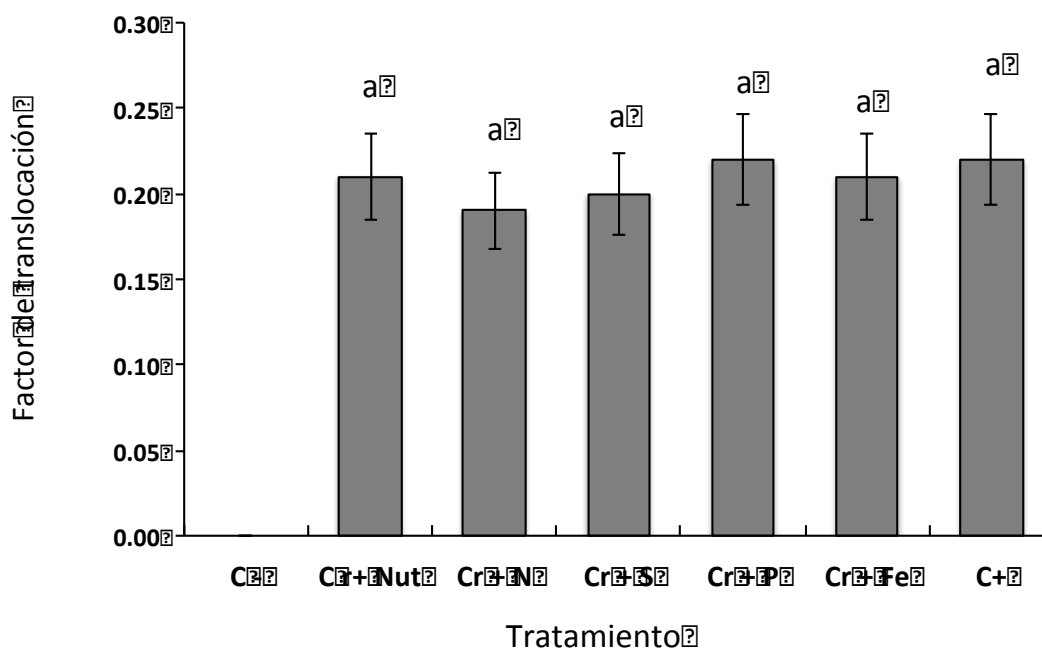
**Figura 29. Concentración promedio de Cr en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** El promedio se calculó sumando las concentraciones de la parte aérea y la raíz, dividiendo entre 2. Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .

Considerando que la captación del Cromo a partir del suelo es por medio de la raíz, y a partir de allí se moviliza a la parte aérea, se cuantificó el Cromo por separado en cada una de estas estructuras. Los valores obtenidos se presentan en la figura 30. La mayor cantidad de Cromo se presentó en las raíces con respecto a la parte aérea. Entre las raíces hubo mayor cantidad de Cromo en los tratamientos con suplemento de nitrato, todos los nutrientes y control positivo, y menor en los tratamientos con suplemento de fosfato, hierro y sulfato, con diferencias significativas entre estos dos grupos. En la parte aérea hubo mayor cantidad de Cromo en los tratamientos con suplemento de todos los nutrientes, nitrato y control positivo, y menor cantidad en los tratamientos con suplemento de sulfato, fosfato y hierro encontrándose diferencias significativas entre estos dos grupos.



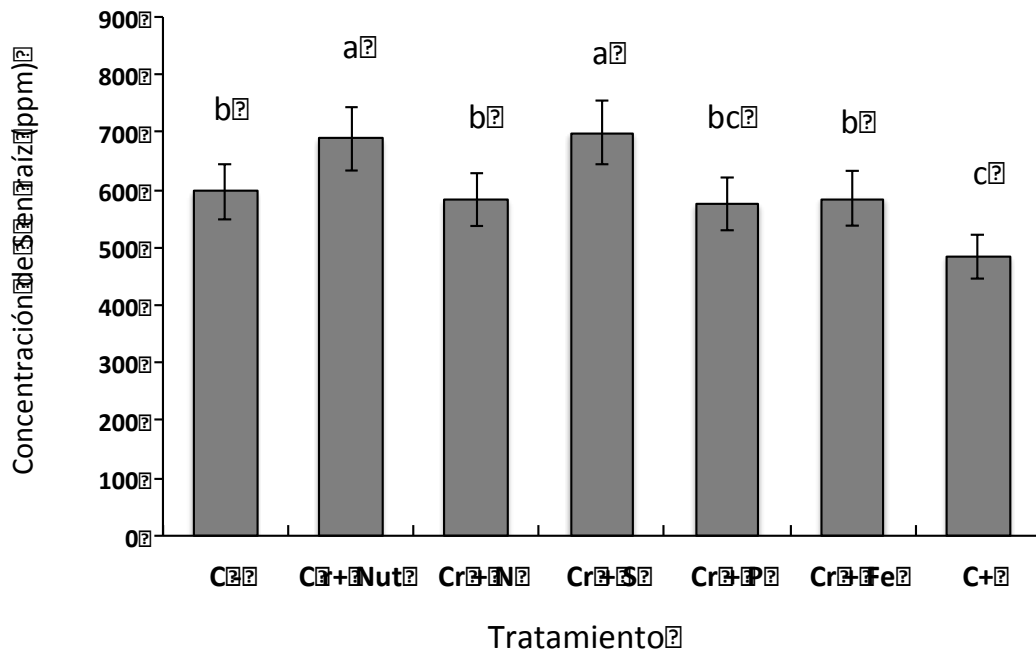
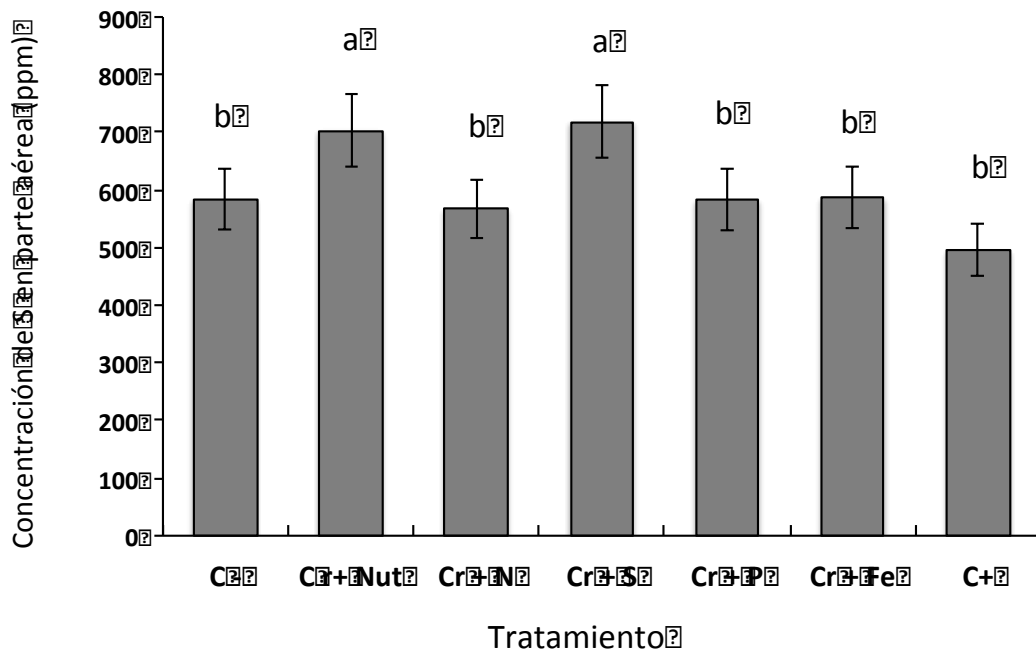
**Figura 30. Concentración de Cr en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .

El factor de translocación obtenido, resultante del cociente de la cantidad de Cromo en la parte aérea entre la cantidad de Cromo en la raíz, se presenta en la figura 31. Este factor fue similar entre todos los tratamientos, alrededor de un valor de 0.2, lo que significa que sólo se transportó a la parte aérea 1/5 parte del Cromo captado por la raíz.



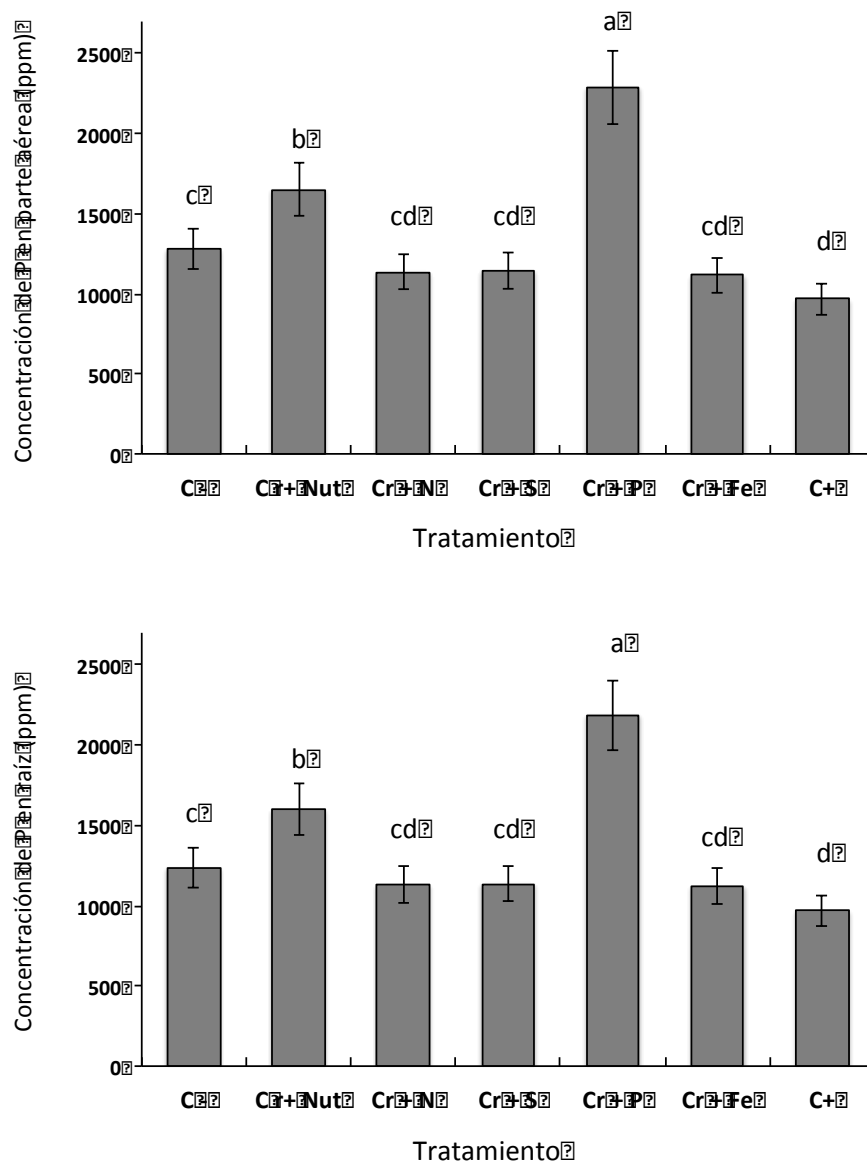
**Figura 31. Factor de translocación de la raíz a la parte aérea de las plantas de maíz PUMA PT3 PONCHO crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .

Así como se analizó el efecto de algunos nutrientes minerales en la captación de Cromo, también se determinó como este metal en su forma de cromato afectó la captación de sulfato, fosfato y hierro. Los resultados obtenidos para el sulfato se presentan en la figura 32 y se observa que en la parte aérea y en la raíz se encontró mayor concentración de azufre en los tratamientos donde hubo suplemento de sulfato, ya sea solo o con los otros nutrientes. Se encontró que en la raíz, la concentración del azufre disminuyó con el suplemento de Cromo.



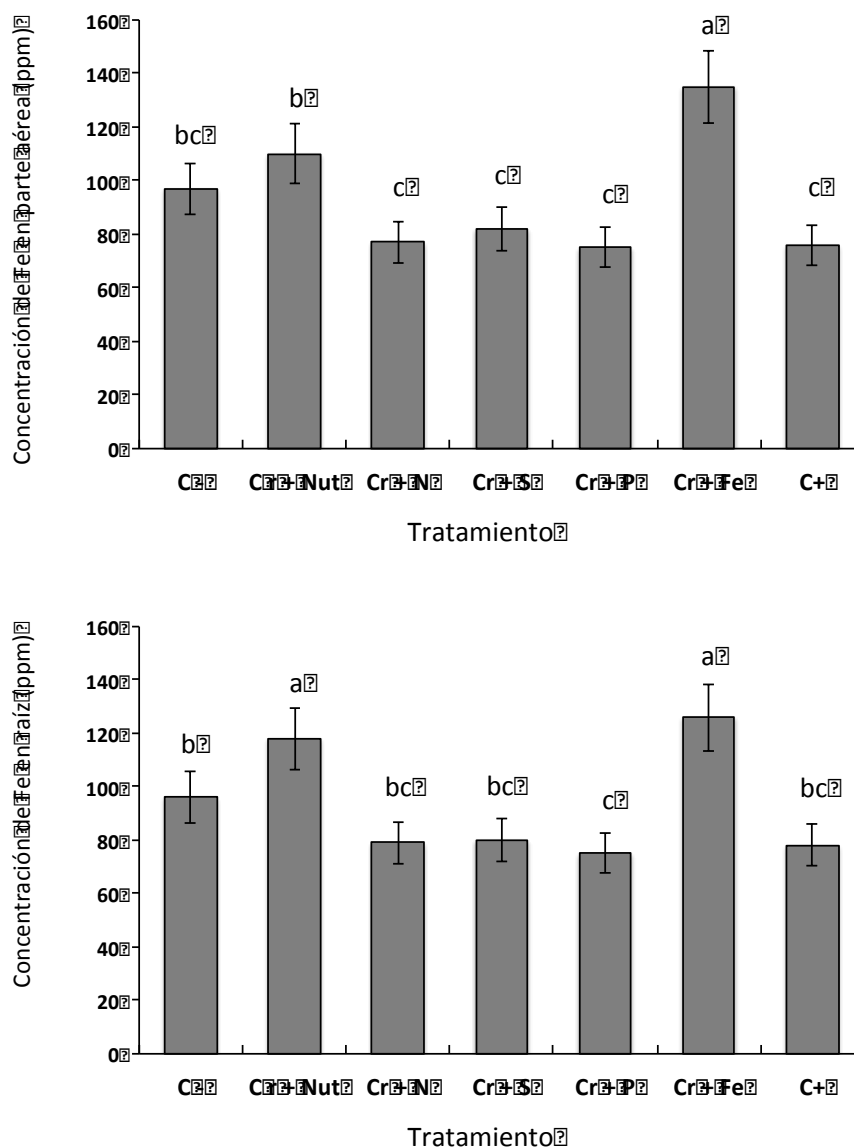
**Figura 32. Concentración de Azufre (S) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales.** Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .

En lo que respecta a la concentración de fósforo, los resultados se presentan en la figura 33. En los tratamientos donde hubo suplemento de fosfato la concentración fue mayor, tanto en la parte aérea como en la raíz, seguida por el tratamiento donde se suplementó fosfato con los otros 3 nutrientes. Sólo en el tratamiento con Cromo sin suplemento de nutrientes, disminuyó la concentración del fósforo con respecto al control.



**Figura 33. Concentración de Fósforo (P) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales. Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .**

La concentración de hierro en las plantas mostró un patrón más complejo que los de los otros nutrientes (Figura 34). En el tratamiento con suplemento de Hierro en el suelo, se encontró mayor concentración en los tejidos, tanto en la raíz como en la parte aérea, y aunque hubo tendencia en varios tratamientos en la disminución de la concentración de este elemento, no se encontraron diferencias significativas.



**Figura 34. Concentración de Hierro (Fe) en la parte aérea y en la raíz en las plantas crecidas en suelo suplementado con diferentes nutrientes minerales. Se indica el intervalo de confianza de la media para  $\alpha = 0.05$ . Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey, con  $p < 0.05$  y  $n = 3$ .**

## 7. DISCUSIÓN

Todos los suelos poseen metales pesados como resultado de los procesos geológicos y edafogénicos y la contaminación deriva de un incremento del contenido de éstos, debido a la ejecución de determinadas actividades humanas. El Cromo se usa sobre todo en las siguientes industrias: metalúrgica, química, de materiales refractarios y en el curtido de pieles; los desechos de las mismas son depositados al ambiente generando contaminación en diferentes fuentes.

La habilidad para acumular contaminantes es variable en diferentes especies vegetales, y aunque las especies hiperacumuladoras son preferidas, uno de los problemas que presentan es su bajo crecimiento y su baja producción de biomasa (Mulligan *et al.* 2001), por lo que especies con alta producción de biomasa han sido consideradas. Aunque estas últimas plantas acumulan menos cantidad del contaminante por unidad de biomasa, la cantidad total del contaminante que puede ser removido puede ser igual o mayor que en plantas acumuladoras. El maíz es una especie que es ampliamente cultivada, y las prácticas agrícolas para incrementar su productividad están bien establecidas; además hay diferentes variedades adaptadas a diferentes suelos y condiciones climáticas (Perales *et al.* 2005).

Existen diferentes variedades criollas e híbridas de maíz, adaptadas para su crecimiento en el centro de México, por lo que en este trabajo se consideraron 3 variedades híbridas, Puma PT3 Poncho, Albatros y Canelo. Los aspectos que se evaluaron fueron la tolerancia al Cromo y la eficiencia de captación de este metal en diferentes condiciones de suplementos minerales.

En las pruebas de germinación y crecimiento *in vitro*, la variedad Puma tuvo mejor porcentaje de germinación y uniformidad de talla, con respecto a las variedades Albatros y Canelo. En las pruebas de crecimiento y tolerancia *in vitro*, las variedades Puma y Albatros fueron diferentes en su comportamiento, mientras que en la variedad Puma hubo mejor crecimiento y tolerancia en el follaje, el crecimiento y tolerancia en la raíz fue similar en ambas variedades. Para los experimentos en suelo se consideró más adecuado utilizar la variedad Puma.

El suelo utilizado en este trabajo provino de una parcela en la cual se siembra maíz de la comunidad de Tiripetío., Michoacán, que por ser franco arenoso, garantizó un buen drenado y mejor disponibilidad de nutrientes para las plantas; el pH moderadamente ácido también favoreció teóricamente la disponibilidad del Cromo al encontrarse de forma predominante como  $\text{HCrO}_4^-$  y

por la baja cantidad de materia orgánica se consideró que tanto la oxidación como la reducción pueden llevarse a cabo en un mismo suelo (Bartlett y James 1979).

El crecimiento de las plantas en suelo suplementado con nutrientes minerales y llevadas al invernadero durante 13 semanas, mostró una disminución severa del crecimiento en los tratamientos suplementados con Cromo, lo cual hizo patente el efecto tóxico de este metal. Aunque no hubo diferencias significativas en el crecimiento y peso entre los diferentes tratamientos suplementados con Cromo, las observaciones cualitativas permitieron determinar que la clorosis se manifestó más rápido (segunda semana), en el tratamiento con Cromo sin suplemento de nutrientes, con relación a la aparición de clorosis en los tratamientos con suplemento de nutrientes (sexta semana), lo que sugiere que el estado de salud de las plantas es mejor en los últimos casos. Por lo tanto, sí resulta benéfico para las plantas el suplemento de nutrientes.

Los porcentajes más altos del TIN tomando de referencia el peso fresco y seco fueron encontrados en las raíces de las plantas crecidas en los tratamientos suplementados con fosfatos, hierro y sulfatos respectivamente; y en la parte aérea fueron en las plantas crecidas en los tratamientos suplementados con hierro, sulfatos y fosfatos respectivamente. Aunque estadísticamente no fueron encontradas diferencias significativas, es rescatable y de suma importancia hacer notar que el híbrido utilizado es tolerante en un amplio rango de concentración del Cromo en el suelo hasta llegar a 194.2 ppm y que las raíces muestran una mayor tolerancia a pesar de estar en mayor contacto con el metal, lo cual puede ser debido a los exudados de las propias raíces y/o a la producción de fitoquelatinas.

La biodisponibilidad de los metales para las raíces de las plantas es influenciada por factores tales como el pH, la habilidad para intercambiar cationes y la presencia de materia orgánica (Kayser *et al.* 2000). Por lo tanto, se ha utilizado una variedad de tratamientos para mejorar la fitoextracción por los cultivos, principalmente los agentes quelantes, fertilización química y las micorrizas (Vameralli *et al.* 2010; Wu *et al.* 2007). En este trabajo se utilizaron nutrientes minerales, como una forma de evitar una mayor contaminación del suelo, para determinar su efecto en la captación de Cromo por plantas de maíz. Los resultados obtenidos mostraron que la mejor captación se dio con el suplemento de todos los nutrientes o el nitrato, mientras que los suplementos sólo de un nutriente como sulfato, fosfato o hierro, disminuyeron la captación en aproximadamente una tercera parte. De esta forma, dependiendo del interés que se tenga, ya sea en la mayor captación de Cromo o en la protección del cultivo, se puede suplementar el suelo con el nutriente, para que aumente o disminuya la captación del metal. De manera similar, en el sorgo (*Sorghum bicolor*) se ha

reportado que la adición de nutrientes inorgánicos al suelo puede incrementar la acumulación de As, Cu y Zn (Marchiol *et al.* 2007).

La mayor acumulación de Cromo en la raíz fue de 90 mg Kg<sup>-1</sup>, en el tratamiento con nitrato, lo cual contrasta con lo reportado en el girasol (*Helianthus annuus* L), que fue de 1300 mg Kg<sup>-1</sup>, una planta hiperacumuladora, aunque en este caso las plantas se crecieron por un mayor tiempo y se irrigaron con una solución de Cr(VI) 200 µM (Davies *et al.* 2001), lo que posiblemente permitió una mejor aclimatación de las plantas al estar en un suelo con menor concentración del metal. Se ha reportado en maíz la captación de otros metales a partir del suelo y se han obtenido acumulaciones de 2060, 1310, 257 y 29 mg Kg<sup>-1</sup>, para Cu, Zn, Pb y Cd, respectivamente (Luo *et al.* 2005), lo que refuerza que el el maíz no sólo puede bioacumular Cromo, sino también otros metales.

Sobre por qué el suplemento de fosfato o sulfato disminuyen la captación de cromato, posiblemente se debe a que este anión es captado a través de proteínas transportadoras de sulfato (Shanker *et al.* 2005) y posiblemente de fosfatos (López-Bucio *et al.* 2014), por lo que los suplementos de sulfato o fosfato posiblemente compiten por la captación con el cromato, lo cual se refuerza por el hecho de que la concentración de azufre y fósforo en la raíz obtenidas en este trabajo, disminuyen en el tratamiento con cromato sin suplemento de nutrientes. Es más difícil explicar por qué el Hierro, ya sea como Fe<sup>+2</sup> o Fe<sup>+3</sup>, siendo tan diferente en su geometría al cromato, también inhibe su captación.

Uno de los factores principales que determinan el éxito en la fitoextracción es la translocación del metal de la raíz al follaje (Li *et al.* 2010). En los resultados obtenidos, el factor de translocación fue de alrededor de 0.2 para todos los tratamientos, similar a lo reportado para el Cromo en la planta hiperacumuladora *Pteris vittata* (Kalve *et al.* 2011) y mayor que en el girasol con un factor de 0.1 (Davies *et al.* 2001), aunque menor que en plantas de arroz con un factor de 0.3 (Dubey *et al.* 2010). Por lo tanto, aunque el maíz no es una planta hiperacumuladora de Cromo y otros metales, tiene un buen transporte de la raíz al follaje, lo cual puede facilitar la remoción de Cromo mediante la cosecha del follaje.

Aunque la acumulación del Cromo en las plantas de maíz es menor al reportado en otras especies, la mayor biomasa de esta planta es un factor importante en la cantidad total del metal acumulado. Por ejemplo, se ha reportado que en el sorgo (un cereal similar al maíz), crecido en suelo con varios metales, acumula una cantidad total de estos metales con respecto al girasol (*Helianthus annuus*), no obstante que en esta última especie la concentración de los metales

sea mayor por unidad de biomasa (Marchiol *et al.* 2007). De igual manera, el maíz podría ser una planta que removiera más Cromo total aunque su concentración en los tejidos fuera más baja que la obtenida para otras especies.

## 8. CONCLUSIONES

- a) Las plantas de maíz de las variedades utilizadas, Puma y Albatros son tolerantes al Cromo hasta concentraciones de 1 mM, tanto en condiciones *in vitro*, como en suelo.
- b) La captación de Cromo es influenciada por el suplemento de nutrientes minerales, pudiendo aumentar o disminuir, lo que da la versatilidad de usarlos como efecto protector al Cromo o bien para su mejor remoción del suelo.
- c) La translocación del Cromo de la raíz al follaje es comparable con la de otras plantas que se utilizan para la biorremediación.
- d) La acumulación de Cromo en plantas de maíz es menor que en plantas hiperacumuladoras, pero su mayor biomasa puede compensar e igualar la cantidad total que se acumular en la planta.

## 9. REFERENCIAS

- Adriano, D.C.**, 1986. "Trace elements in the terrestrial environment". Springer-Verlag, New York.
- Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. "Trace Element Chemistry in Residual-Treated Soil: Key Concepts and Metal Bioavailability". *Journal of Environmental Quality*, 34: 49–63.
- Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentasti, E., Sarzanini, C & Barberis, R.** (2002). Distribution and mobility of metals in contaminated sites. Chemometric investigation of pollutant profiles. *Environmental Pollution*, 119(2),117-193.
- Alloway, B.J.(ed)**. (1990). *Heavy metals in soils*. John Wiley and Sons Inc. London.340p.
- Alloway, B.J.**, 1995. "Heavy metals in soils". Chapman & Hall, London.
- Brady, N.C. & R.R. Weil, 2002. "The Nature and Properties of Soils". 13th Edition. Upper Saddle River,
- Amtmann A, Blatt MR (2008)** Regulation of macronutrient transport. *New Phytol* 181: 35–52
- Bartlett, R.J., and .B.R. James.** 1979. Behavior of Chromium in Soils (III) Oxidation.
- Bowen, H. J. M., 1979.** "Environmental Chemistry of the Elements". **Academic Press, London.NJ: Prentice-Hall, Inc.**
- Cañizales – Villanueva RO.**(2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42:131-143.
- Bucher M, Rausch C, Daram P (2001)** Molecular and biochemical mechanisms of phosphorus uptake into plants. *J Plant Nutr Soil Sci* **164**: 209-217.
- Calder, L. M., 1988.** "Chromium contamination of groundwater", In: Nriagu, J.O., Nieboer, E. (Eds.), *Chromium in Natural and Human Environments*, (Wiley Interscience, New York),., 215-231
- Cervantes, C., Garcia, J.C., Devars S., Corona F.G., Tavera H.L., Torres-Guzman J.C. Sanchez R.M.** (2001). Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS. Microbiol.Rev.* 25:335-347
- Chandler J, Nardmann J, Werr W.** 2008. Plant development revolves around axes. *Trends Plant Sci* 13: 78-84.
- Chinese Environmental Science Press, Beijing:** 1998.
- Marcano J. Glosario de Términos Ambientales. Educación ambiental en la Republica Dominicana. 2009. [En línea]. [http://www.jmarcano.com/glosario/glosario\\_m.html](http://www.jmarcano.com/glosario/glosario_m.html).
- Clemens, S., Palmgren, M. G. & Krämer, U.** (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in plant Science* 7:309-315.
- Cicerone,D,S., Sánchez, P.& Paula, R., S** (2006). Contaminación y medio ambiente. Eudeba. Buenos Aires, Argentina. 210 pp.
- Cotton, F. A. and Wilkinson, G., 1980.** "Chromium", In: *Advanced Inorganic Chemistry, a Comprehensive Text*, (4th Edition. John Wiley, New York). 719-736.
- Crawford NM, Forde BG (2002)** Molecular and developmental biology of inorganic nitrogen nutrition. In CR Somerville, EM Meyerowitz, eds, *The Arabidopsis Book*. American Society of Plant Biologists, Rockville,MD,tab.0011, [www.aspb.org/publications/arabidopsis/](http://www.aspb.org/publications/arabidopsis/).
- Cubero B, Nakagawa Y, Jiang XY, Miura KJ, Li F, Raghothama KG, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM** (2009) The phosphate transporter PHT4;6 is a determinant of salt tolerance that is localized to the Golgi apparatus of Arabidopsis. *Mol Plant* 2: 535–552.
- Daram P, Brunner S, Rausch C, Steiner C, Amrhein N, Bucher M** (1999) Pht2;1 encodes a low-affinity phosphate transporter from Arabidopsis. *Plant Cell* 11:2153-2166

- Davidian JC, Kopriva S** (2010) Regulation of sulfate uptake and assimilation--the same or not the same? *Mol Plant* **3**: 314-325
- Davies, F.T., Puryear J.D., Newton, R.J., Egilla, J.N., Grossi, J.A.S.** (2002). Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: Influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. *J. Plant Nutr.* 25:2389-2407. **De Flora S. 2000** Threshold mechanisms and site specificity in chromium (VI) carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21: 533-541.
- Davies FT, Puryear JD, Newton RJ, Egilla JN, Saraiva GJA. (2002)** Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Plant Physiology* 158: 777-786.
- Delgadillo-López, A.E., González-Ramírez, C.A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra. J.R & Acevedo-Sandoval, O.** (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 14:597-612
- Demostrables J, Scanlon MJ.** 2009. Maize (*Zea mays*): A model organism for basic and applied research in plant biology. *Cold Spring Harb. Protoc.* 10:doi 10.1101/pdb.emo132.
- Diez Lázaro, F, J., 2008.** Fitorcorrección de suelos contaminados con metales pesados: Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas. 331p.
- Doran, J.W., and Parkin, T.B. 1994.** Defining and assessing soil quality. In "Defining Soil Quality for Sustainable Environment" (J. W. Doran, D. C. Coleman, D. F. Bezdicek, and B. A. Stewart, Eds.), p. 3-21. SSSA Spec. Publ. No. 35, Soil Sci. Soc. Am., Inc., Am. Soc. Agron., Inc., Madison, WI.
- Dubey S, Misra P, Dwivedi S, Chatterjee S, Bag SK, Mantri S, Asif MH, Rai A, Kumar S, Shri M, Tripathi P, Tripathi RD, Trivedi PK, Chakrabarty D, Tuli R. (2010)** Transcriptomic and metabolomic shifts in rice roots in response to Cr (VI) stress. *BMC Genomics* 11: 648-659.
- E.E.A. (European Environmental Agency), 1995.** "Europe's Environment: the Dobris Assessment – Chapter 7: Soil". Edited by David Stanners and Philippe Bourdeau, 1995.
- Esau K.** 1965. *Plant anatomy*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Epstein E, Bloom A** (2005) *Mineral nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, Segunda edición. Editorial Sinauer. USA. 400 pp.
- Feldman L.** 1994. The maize root. P. 29–37. En: *The maize hand book*. (M. Freeling y V. Walbot, Eds). Springer, New York.
- GARCÍA, Inés; DORRONSÓ, Carlos.** 2005. Contaminación por metales pesados.
- García, C., Hernández, T., Pascual, J., Moreno J.L., and Ros, M.** 2003. Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. In: pp 43-146. *Estrategia para su rehabilitación*. En: *Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelos en España*.
- García, E.M.,** (2014). *Técnicas de remediación de suelos*. (Vol.II.Tratamientos Biológicos: biorremediación y fitorremediación). Primera edición. UNAM, FES Zaragoza, Septiembre 2014. 160 p
- García, G., Zanuzzi, A.L., Faz, A.,** 2005. "Evaluation of heavy metal availability prior to an in situ soil phytoremediation program". *Biodegradation*, 16: 187–194.

- Gutiérrez, G.** 2005. Metales pesados en sedimentos del lago de Tota. Tesis de Magister en Ingeniería Civil – Recursos Hídricos. Bogotá D.C.: Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. 2005. p. 12
- Glanz, J.T.** 1995. Saving Our Soil: Solutions for Sustaining Earth's Vital Resource. Johnson Books, Boulder, CO.
- Grzesiak MT.** 2009. Impact of soil compaction on root architecture, leaf water status, gas exchange and growth of maize and triticale seed lings. *Plant Root* 3: 10-16
- Golovatyj, S.E., Bogatyreva E.N., Golovaty S.E.** (1999). Effect of levels of chromium content in a soil on its distribution in organs of corn plants. *Soil Res. Fert.* 197-204.
- Gough, L.P.,** 1993. "Understanding our fragile environment, lessons from geochemical studies". USGS Circular 1105, United States Government Printing Office. Washington, DC.
- Greenwood, N. N. and Earnshaw, A.,** 1984. Chemistry of the Elements, Pergamon Press, Oxford, 1187-1200
- Handa, B. K.,** 1988. "Occurrence and distribution of chromium in natural waters of India". In: Nriagu, J.O., Nieboer, E. (Eds.), Chromium in Natural and Human Environments, (Wiley Interscience, New York), 189-215.
- Hauschild, M.Z.** (1993) Putrescine (1,4-diaminobutane) as indicator of pollution-induced stress in higher plants: barley and rape stressed with Cr(III) or Cr(VI). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 26:228-247
- Hayat S, Khalique G, Irfan M, Arif Shafi Wani, Tripathi BN, Ahmad A** (2011) Physiological changes induced by chromium stress in plants: an overview. Springer-Verlag, 2-13.
- He, Z.L., Zhou, Q.X., Xie, Z.M.,** 1998. "Chemical equilibrium of beneficial and pollution elements in soil".
- Hochholdinger F, Feix G.** 1998. Early post-embryonic root formation is affected in the maize mutant *lrt1*. *Plant J* 16: 247-255.
- Hochholdinger F, Park WJ, Sauer M, Woll K.** 2004. From weeds to crops: Genetic analysis of root development in cereals. *Trends Plant Sci* 9: 42-48.
- Hochholdinger F, Katrin W, Sauer M, Dembonsk D.** 2004b. Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific development programmes. *Ann Bot* 93: 359–368.
- Hochholdinger F, Wen TJ, Zimmermann R, Chimot-Marolle P, da Costa e Silva O, Bruce W, Lam key KR, Wienand U, Schnable PS.** 2008. The maize (*Zea mays* L.) *root hair less3* gene encodes a putative GPI-anchored, monocot-specific, COBRA-like protein that significantly affects grain yield. *Plant J* 54: 888–898.
- Huffman, E.W.D., Allaway, W.H** (1973). Chromium in plants: Distribution in tissues, organelles, and extracts and availability of bean leaf Cr to animals. *J. Agr. Food Chem.* 21:982-986.
- James, B.R. and Bartlett, R.J .** 1984. Plant- soil interactions of chromium. *Journal of Environmental Quality*, vol 13, 67- 70.
- Kabata Pendias, A. & Pendias, H.,** 1992. "Trace elements in soils and plants". CRC Press Inc., BocaRaton, Florida.
- Kalve S, Sarangi BK, Pandey RA, Chakrabarti T.** (2011) Arsenic and chromium hyperaccumulation by an ecotype of *Pteris vittata*: prospective for phytoextraction from contaminated water and soil. *Current Science* 100: 888-894.

- Kayser A, Wenger K, Keller A, Attinger W, Feli H.R, Gupta SK, Schulin R. (2000)** Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. *Environmental Science Technology* 2000; 34:17781783.
- Kraiser T, Gras DE, Gutiérrez AG, González B, Gutiérrez RA (2011)** A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J Exp Bot* 62: 1455-1466
- Leustek T, Saito K (1999)** Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiol* 120: 637-643.
- Li JT, Liao B, Lan CY, Ye ZH, Baker AJM, Shu WS. (2010)** Cadmium tolerance and accumulation in cultivars of a high-biomass tropical tree (*Averrhoa carambola*) and its potential for phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* 39: 1262-1268.
- Liedgens M, Soldati A, Stamp P, Richner W. 2000.** Root development of maize (*Zea mays* L.) as observed with minirhizotrons in lysimeters. *Crop Sci* 40: 1665–1672.
- López Arias, M. & Grau Corbí, J.M., 2004.** “Metales pesados, materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de pastos de la España Peninsular”. Ed. INIA.
- López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, Herrera-Estrella L. 2003.** The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr Opin Plant Biol* 6: 280-287.
- López-Bucio J, Hernández-Madrigal F, Cervantes C, Ortiz-Castro R, Carreón-Abud Y, Martínez-Trujillo M. (2014)** Phosphate relieves chromium toxicity in *Arabidopsis thaliana* plants by interfering with chromate uptake. *Biometals* 27: 363-370.
- Luo CL, Shen, ZG, Li XD. (2005)** Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59: 1–11.
- Luo H, Lu Y, Shi X, Mao Y, Dalal, NS (1996)** Chromium (IV)-mediated Fenton-like reaction causes DNA damage: Implication to genotoxicity of chromate. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 26: 185-191.
- Marchiol L, Fellet G, Perosa D, Zerbi G. (2007)** Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: a field experience. *Plant Physiology and Biochemistry* 2007; 45:379–387.
- Mas, A. & Azcúe, JM., 1993.** “Metales en sistemas biológicos”. Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. LCT-74. Barcelona.
- McBride, M.B., 1994.** “Environmental chemistry of soils”. Oxford Univ. Assessment of a sequential extraction procedure for perturbed Press, New York.
- Merian, E., 1991.** “Metals and their compounds in the environment”. VCH Publ, Weinheim, Germany.
- Minissi, S., Caccese, D., Passaflume, F., Grella, A., Eleanora, C., Rissoni,M. (1998).** Mutagenicity (micronucleus test in *Vicia faba* root tips), polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metal content of sediments collected in Tiber river and its tributaries within the urban area of Rome. *Mutat. Res.* 420:77-84.
- Monasterio P, Velásquez L, Alejos G, Lugo L, Maturer W, Tablante J, Rodríguez L, Araujo D. 2007.** Pro puesta para la evaluación fenológica del cultivo de maíz en Venezuela. *Ciencia y producción vegetal.* INIA Divulga 59-63
- Moreno Grau, María Dolores.** Metales: Zinc. En: *Toxicología Ambiental: Evaluación del riesgo para la salud humana.* Madrid: McGraw-Hill, 2003.p 212-214 **Navarro Aviñó J.P., Aguilar**

- Alonso I., López-Moya J.R. 2007.** Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 2007/2
- Mudge SR, Rae AL, Diatloff E, Smith FW (2002)** Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphatetransporters in Arabidopsis. *Plant J* 31: 341–353.
- Mulligan CN, Yong RN, Gibbs BF. (2001)** Remediation technologies for metal contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology* 60: 193–207.
- Muñoz D.J, Soler A, López F, Hernández M (2013).** Edafología MANUAL DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SUELOS. Primera e. UNAM.
- Nardmann J. y W. Werr.** 2009. Pattern of the maize embryo and the perspective of evolutionary developmental biology. P. 105-119. En: *Hand book of maize: It's biology* (J.L Ben net zen y S.C Hake, Eds) Springer, New York.
- Navas, A. & Lindhorfer, H., 2003.** "Geochemical speciation of heavy metals in semiarid soils of the central Ebro Valley (Spain)". *Environment International*, 29: 61–68.
- Nieboer E, Jusys AA., 1988.** Biogeochemistry of chromium. In: Nriagu JO, Nieboer E, editors. *Chromium in the natural and human environments*. New York: John Wiley & Sons. 31–33
- Nriagu, J.O., 1984.** "Changing Metal Cycles and Human Health (Dahlem Konferenzen)". Springer-Verlag, Berlin
- Nriagu, J.O., 1990.** "Global metal pollution. Poisoning the biosphere". *Environment*, 32: 7-33.
- Ortiz Castro, R., 2005.** Modificaciones en la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana L.* por efecto del cromo. 74p.
- Passow HA, Rothstein, Clarkson TW.(1961).** The general pharmacology of heavy metals. *Pharmacol, Rev.* 13:185-224
- Patrick W.H., Jr. and A.Jugsujinda., 1992.** Sequential reduction and oxidation of inorganic nitrogen, manganese, and iron in flooded soil. *Soil Science Society of America Journal*. 56, 1071-1073
- Perales HR, Benz BF, Brush SB. (2005)** Maize diversity and ethnolinguistic diversity in Chiapas, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 949-954.
- Pinzón L., Rodríguez J. & Giraldo E.** Interacción de los metales pesados Cr, Cd, Pb, Ni entre el sedimento y la columna de agua en el caso del río Bogotá. *Universidad de los Andes*. No. 222. 1995.
- Ramírez-Díaz MI, Riveros-Rosas H, Campos-García J y Cervantes C., (2009).** Reducción bacteriana de cromo hexavalente: mecanismos y aplicaciones
- Ramachandran, V., D'Souza T. J., Mistry K.B. (1980).** Uptake and transport of chromium in plants, *J. Nucl. Agric. Biol.* 9:126-129.
- Rank, J., Nielsen, M.H. (1998).** Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mutat. Res.* 418:113-119.
- Ritchie G.S.P., Sposito, G., 1995** Speciation in soils In: Ure, AM., Davidson, C.M (eds). *Chemical speciation in the environment*. Blackie Academic y profesional, London, 201-203
- Riley RG, Zachara JM, Wobber FJ (1992)** Chemical contaminants on DOE lands and selection of contaminant mixtures for subsurface science research. Report DOE/ER-0547T. US Department of Energy, Washington, DC
- Ross, S.M., 1994.** "Sources and forms of potentially toxic metals in soil-plant systems" En: Ross, S.M. (ed.), "Toxic metals in soil-plant systems", pp. 3-25. John Wiley & Sons; Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

- Shanker AK, Cervantes C, Loza-Tavera H, Avudainayagam S (2005)** Chromium toxicity in plants. *Environment International Journal* 31: 739-753.
- Sheridan WF, Clark JK.** 1994. Fertilization and embryogeny in maize. P. 1-10 En: *The maize hand book* (M. Free ling ,V. Walbot, Eds ). Springer, New York.
- Singh V., Van Oosterom E. J., Jordan D.R., Messina C.D., Cooper M. y G. L. Hammer.** 2010. Morphological and architectural development of root systems in sorghum and maize. *Plant Soil* 1-2: 287-299.
- Shuman LM.,** 1991. "Chemical forms of micronutrients in soils". En: Luxmoore, RJ. (ed.), "Micronutrients in agriculture". Madison, WI: SSSA Inc; 1991. p. 114–44. Singer, M.J., and Sojka, R.E. 2001. Soil quality.pp. 312-314. In McGraw-Hill yearbook of science and technology. 2002. McGraw-Hill. New York.
- Skeffintong, R.A., Shewry P.R., Petersen P.J. (1976).** Chromium uptake and transport in barley seedlings *Hordeum vulgare*. *Planta* 132:209-214.
- Sojka, R.E., and Upchurch, D.R.** 1999. Reservations regarding the soil quality concept.*Soil Sci.Soc.Am. J.* 63:1039-1054
- Sotelo Muñoz, A, P (2012).** Especiación de cromo en la solución del suelo de tres suelos enmendados con biosólidos bajo diferentes condiciones oxidoreductoras.62p.
- Sposito, G.,** 1989. "The chemistry of soils". Oxford University Press. New York.
- Stollenwerk, K. G., and D. B. Grove.,** 1985. "Adsorption and Desorption of Hexavalent Chromium in an Alluvial Aquifer Near Telluride, Colorado." *Journal of Environmental Quality*, 14, 150-155.
- Tiller, K.G.,** 1989. "Heavy metals in soils and their environmental significance". *Advances in soil Science*,9: 113-141.
- Taiz L, Zeiger E** (2006) *Plant physiology* 6ta Ed. Sinauer Associates Inc. USA.
- Vajpayee, P., Sharma, S.C., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Yunus, M.** (1999). Bioaccumulation of chromium and toxicity to photosynthetic pigments, nitrate reductase activity and protein content of *Nelumbo nucifera* Gaertn.*Chemosfere* 39:2159-2169.
- Vamerali T, Bandiera M, Mosca G (2010)** Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemical Letters* 8: 1-17.
- Van-Camp. L., Bujarrabal, B., Gentile, A-R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C., Selvaradjou, SK.,** 2004. "Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection". EUR 21319 EN/4, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Viander S, Vicente AF, Vicente J, Vicente O** (1999) Egondi Artes Graficas (Ed.)XIII Reunión Española de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal (442). 21
- Wallace, A., Soufi, S.M., Cha, J.W., Romney, E.M. (1976).** Some effects of chromium toxicity on bush bean plants grow in soil. *Plant and Soil* 44:471-473.
- Wang, H.** (1999). Clastogenicity of chromium contaminated soil samples evaluated by *Vicia* root-micronucleus assay. *Mut. Res.* 436:147-149.
- Wild Alan** (1988). Longman Group UK Limited (Ed.) *Las condiciones del suelo y el desarrollo de las plantas según Russell.* (1047), 94-98.
- Wu LH, Sun XF, Luo YM, Xing XR, Christie P. (2007)** Influence of [S,S]-EDDS on phytoextraction of Copper and Zinc by *Elsholtzia Splendens* From Metal-Contaminated Soil. *Journal of Phytoremediation* 9: 227-241.

