



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**Fitorremediación de un suelo contaminado
con residuos de baterías de automóvil
mediante el uso de *Ricinus communis* y
hongos micorrízico arbusculares**

NOMBRE DEL SUSTENTANTE

Cuellar Sánchez Alma

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

La presente tesis titulada: Fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil mediante el uso de *Ricinus communis* y hongos micorrizico arbusculares, realizada por la alumna: Alma Cuellar Sánchez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA


Dra. Ma. del Carmen Ángeles González Chávez

ASESOR


Dr. Rogelio Carrillo González

ASESORA


Dra. Adriana Delgado Alvarado

ASESOR


Dr. Ignacio Eduardo Maldonado Mendoza

ASESOR


Dr. Fernando Amílcar Solís Domínguez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2017

FITORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON RESIDUOS DE BATERÍAS DE AUTOMÓVIL MEDIANTE EL USO DE *Ricinus communis* Y HONGOS MICORRÍZICO ARBUSCULARES

Alma Cuellar Sánchez
Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

La presente investigación se dividió en dos fases experimentales. La primera consistió en la selección de la accesión de *Ricinus communis* con las mejores características agronómicas y calidad de aceite. Por su rendimiento y calidad de aceite, la accesión SF7 se propuso para evaluar su desempeño agroproductivo y su capacidad de fitorremediación de elementos potencialmente tóxicos (EPTs). En la segunda etapa se analizó la respuesta de *R. communis* SF7 y hongos micorrízico arbusculares (HMA) en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil para su posible uso en la fitorremediación. En el experimento se evaluaron cuatro hongos micorrizicos (*Acaulospora* sp.; *Gigaspora gigantea*, *Funneliformis mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp.) y un tratamiento sin inocular. El suelo estaba altamente contaminado con Pb (41, 803 mg kg⁻¹) y Cu (798 mg kg⁻¹), además de presentar problemas de salinidad, no obstante *R. communis* logró complementar su ciclo de vida. Los HMA no tuvieron efecto sobre las características agronómicas de *R. communis*, ni en la síntesis de moléculas osmoprotectoras y actividad enzimática en las hojas de las plantas. Sin embargo, *R. communis* inoculado con los HMA presentó mayor colonización micorrízica y peso seco de las semillas de ricino en comparación con las plantas testigo. *F. mosseae* BEG-25 disminuyó la concentración extractable de Pb en la rizósfera de *R. communis* en comparación con la concentración de Pb en la rizósfera de las plantas sin inocular. Las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. acumularon menor concentración de Pb en la parte aérea vegetal en comparación con las plantas testigo. Además, *Acaulospora* sp. incrementó la calidad del aceite de ricino, debido a que tuvo mayor porcentaje de ácido palmítico, oleico y linoleico en comparación con el aceite de las semillas de las plantas testigo. Los efectos favorables de *Acaulospora* sp. y *F. mosseae* BEG-25 son las de mayor interés en la remediación del suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Palabras clave: baterías de plomo, fitoestabilización, higuera, metales pesados, micorriza arbuscular.

FITORREMIATION OF A SOIL CONTAMINATED WITH RESIDUES OF AUTOMOBILE BATTERIES THROUGH THE USE OF *Ricinus communis* AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

Alma Cuellar Sánchez
Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

This research was divided into two experimental phases. The first one consisted on the selection of the accession of *Ricinus communis* with the best agronomic traits and quality of castor oil. Due to its excellent yield and quality of oil, the SF7 accession was proposed to evaluate agroproductive performance and phytoremediation capacity of potentially toxic elements (PTEs). In the second stage the response of *R. communis* SF7 and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) was analyzed in a site contaminated with residues of automobile batteries to analyze the possible use of these organisms in phytoremediation. Field experiments were carried out with four mycorrhizal fungi (*Acaulospora* sp., *Gigaspora gigantea*, *Funneliformis mosseae* BEG-25 and *Glomus* sp.) and a control treatment without fungal inoculate. The soil was highly polluted with Pb (41, 803 mg kg⁻¹) and Cu (798 mg kg⁻¹), besides presenting salinity problems, nevertheless *R. communis* was able to complete its life cycle under these conditions. AMF had neither effect on the agronomic characteristics of *R. communis*, nor on the synthesis of osmoprotective molecules, nor on the enzymatic activity in the leaves of the plants. However, *R. communis* inoculated with AMF showed higher dry weight of castor seeds compared to control plants. *F. mosseae* BEG-25 decreased the extractable concentration of Pb in the rhizosphere of *R. communis* compared to the concentration of Pb in the rhizosphere of uninoculated plants. Plants inoculated with *Acaulospora* sp. accumulated lower concentration of Pb in the plant shoot compared to the control plants. In addition, *Acaulospora* sp. increased the quality of castor oil, because it had a higher percentage of palmitic, oleic and linoleic acid compared to the oil of the seeds of the control. The favorable effects of *Acaulospora* sp. and *F. mosseae* BEG-25 are of great interest in the remediation of soil contaminated with residues of automobile batteries.

Keywords: lead-batteries, phytostabilization, castor bean, heavy metals, arbuscular mycorrhiza.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para mis estudios de doctorado en el Colegio de Postgraduados.

Agradezco al Municipio de Tepetlaoxtoc por su apoyo en la realización de este proyecto.

Agradezco a la Dra. M.C.A González Chávez (quien proporcionó el tema de tesis), Dra. Delgado Alvarado A. y Dr. González Carrillo R. por sus conocimientos, dedicación, tiempo, apoyo en la escritura tanto de los artículos como de la tesis, apoyo técnico, recursos proporcionados (materiales, reactivos, insumos, etc.) y me permitieron trabajar en el laboratorio a su cargo. Así mismo, agradezco el tiempo, paciencia y la dedicación que me brindaron el Dr. Solís Domínguez F.A. (análisis estadístico). Dr. Maldonado Mendoza I. E.; Dr. Javier Suarez (análisis estadístico); Dr. B E Herrera-Cabrera (análisis de componentes principales) y Dra. Rios Leal E (análisis de ácidos grasos). Pero especialmente quiero agradecer a la Dra. Adriana Delgado Alvarado, quien me apoyo no solo en lo antes mencionado sino también me formo personal y profesionalmente, sin su ayuda no habría llegado a culminar mis estudios, para mi es un verdadero ejemplo a seguir.

Gracias a esas personas importantes que me brindaron su amistad, así como, su ayuda técnica, ustedes hicieron mi estancia en el Colegio de Postgraduados mucho más fácil.

Patricia Ramírez, Alfricia de los Santos, Alejandro Ruíz Olivares, Arturo Jiménez, Sandra Rangel, Leonardo Molgado, Luisa Rodríguez, Miriam Martínez, Alfredo Iniesta, Edwin C; Domingo Cruz Labana, Cecilia Viveros, Etzael Nuñez, Magdalena Lazcano; David Moreno; Eréndira Carmona; Isabel Hernández; Victor Duarte; Ariadna Sánchez y Stefani Perea.

A mis maestros que en este andar por la vida, influyeron en mí con sus lecciones y experiencias en formarme profesionalmente y personalmente, quienes, además de ser mis mentores los considero mis amigos.

Andrés Muñoz García, Antonio Munive Hernández, Carmen Villegas, en especial a José Carlos Mendoza Hernández quien me brindó su apoyo incondicional y fue fundamental para mi formación.

Gracias por la asesoría técnica para realizar los análisis químicos del suelo, su amena compañía en el laboratorio o campo.

M.C. Jaime Cruz Díaz, C. Bibiano Ramírez Vega y C. Hilario Romero Romero.

DEDICATORIA

A mi esposo Adrián Rojas Rojas.

Esta tesis la dedico a la estrella de la noche que ilumina mi mundo entero. Juntos hemos logrado culminar este camino, gracias a tu amor, comprensión, paciencia y ejemplo. Tú hiciste lo posible para que yo pudiera lograr mis sueños, gracias por motivarme y ayudarme cuando sentía que el camino se terminaba. Gracias por estar siempre conmigo.

A mi familia

Con todo mi cariño y respeto a la mujer que me dio la vida (mi mamá) y desde entonces me ha apoyado incondicionalmente, el ángel que cuida mis pasos. Al igual al artista que más admiro (mi papá), quien me ha enseñado a poner atención en las cosas importantes de la vida. A la mejor persona del mundo (mi abuelita), espero algún día poder llegar a ser el gran ser humano que eres tú. Además a mis compañeros de vida, mis hermanos (Chelo, Polo†, Leo, Chayo y Dany). A mis sobrinitos (Uri, Toño, Aurum, Ale y Sebas) por brindarme sus alegrías y tristezas.

A mis amigos

Quienes siempre me han motivado para salir adelante, con su carisma, buen humor, confianza y cariño. El mundo es un lugar mucho más agradable por el hecho de haberlos conocido, todos aunque diferentes tienen algo en común, son personas con mucha fortaleza y admirables. Andrés Lugo, José Oscar Pacheco, Patrosky, Alfricia Villamil, Edwinsito C y Javier Arrollo.

COTENIDO

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIA	IV
CAPITULO 1. PROPIEDADES AGROPRODUCTIVAS DE <i>RICINUS COMMUNIS</i> Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL ACEITE	1
RESUMEN	1
1.1 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	2
1.2 OBJETIVO E HIPÓTESIS.....	2
1.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
1.3.1 Caracterización fisicoquímica del suelo	3
1.3.2 Agroproductividad de las plantas y características de las semillas.....	3
1.3.3 Propiedades fisicoquímicas del aceite de ricino	4
1.3.4 Análisis de los datos	4
1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
1.4.1 Caracterización fisicoquímica del suelo	5
1.4.2 Agroproductividad de las plantas	5
1.4.3 Características de las semillas.....	7
1.4.4 Características fisicoquímicas del aceite de ricino	8
1.5 CONTRASTE DE HIPÓTESIS	10
1.6 CONCLUSIONES.....	10
1.7 BIBLIOGRAFÍA CITADA	11
CAPITULO 2. FITORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON RESIDUOS DE BATERÍAS DE AUTOMÓVIL MEDIANTE EL USO DE <i>RICINUS COMMUNIS</i> Y HONGOS MICORRÍZICO ARBUSCULARES	15
RESUMEN.....	15
2.1 INTRODUCCIÓN.....	16
2.2 ANTECEDENTES	18

2.2.1 Contaminación con residuos de baterías de automóvil.....	18
2.2.2 Toxicidad por Pb.....	19
2.2.3 Plantas y residuos de batería de automóvil.....	20
2.2.4 Remediación de sitios contaminados.....	21
2.2.5 Fitorremediación.....	21
2.2.6 Mecanismos de tolerancia a EPTs.....	23
2.2.6.1 Azúcares solubles totales.....	24
2.2.6.2 Prolina.....	24
2.2.6.3 Actividad de superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa.....	25
2.2.6.4 Compuestos fenólicos.....	26
2.2.7 <i>Ricinus communis</i>	27
2.2.7.1 Respuesta de parámetros bioquímicos a la contaminación por Pb en <i>Ricinus communis</i>	28
2.2.8 Hongos micorrízico arbusculares (HMA) y fitorremediación.....	28
 2.3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	 30
 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	 31
2.4.1 Sitio de estudio.....	31
2.4.2 Caracterización inicial del sitio.....	32
2.4.2.1 pH y conductividad eléctrica (CE).....	32
2.4.2.2 Concentración total de EPTs en el suelo.....	33
2.4.2.3 Concentración extractable de EPTs en el suelo.....	33
2.4.2.4 Concentración soluble de EPTs en el suelo.....	33
2.4.2.5 Materia orgánica.....	34
2.4.2.6 Determinación de Na, K y sulfatos solubles.....	34
2.4.3 Establecimiento del experimento en campo.....	34
2.4.3.1. Producción del inóculo micorrízico.....	34
2.4.3.2 Evaluación de la calidad del inóculo micorrízico.....	35
2.4.3.3 Preparación de semillas de ricino.....	35
2.4.3.4 Inoculación de semillas de ricino con HMA.....	36
2.4.3.5 Preparación del terreno para la siembra de <i>Ricinus communis</i>	36
2.4.3.6 Trasplante.....	36
2.4.4 Diseño experimental y análisis estadístico.....	36
2.4.5 Evaluación del experimento en campo.....	37
2.4.5.1 Cinética de crecimiento de las plantas de ricino.....	37
2.4.5.2 Análisis químico del suelo rizosférico.....	37
2.4.5.3 Agro-productividad de las plantas.....	38
2.4.5.3.1 Perfil de análisis de ácidos grasos.....	38
2.4.5.4 Concentración de EPTs, calcio y fósforo en la parte aérea de las plantas.....	38
2.4.5.5. Toma de muestra para el análisis de estrés oxidativo de las plantas de ricino.....	39
2.4.5.5.1 Solutos osmoprotectores en las hojas.....	40
2.4.5.5.1.1Azúcares solubles totales.....	40
2.4.5.5.1.2 Concentración de prolina en hojas.....	40
2.4.5.5.2 Actividad enzimática en las hojas.....	41
2.4.5.5.2.1 Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD).....	41

2.4.5.5.2 Actividad de la enzima ascorbato peroxidasa (APX)	41
2.4.5.5.3 Concentración de compuestos fenólicos totales en hojas	42
2.4.5.5.4 Concentración de clorofila.....	42
2.4.5.6. Frecuencia de colonización micorrízica en raíces de ricino.....	43
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
2.5.1 Caracterización química inicial del suelo	43
2.5.2 Caracterización química en la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	46
2.5.2.1 pH, CE y Eh en la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	46
2.5.2.2 Concentración total de EPTs en la rizósfera de <i>Ricinus communis</i>	49
2.5.2.3 Concentración extractable de EPTs en la rizósfera de <i>Ricinus communis</i>	51
2.5.2.4 Concentración soluble de EPTs y sales en la rizósfera de <i>Ricinus communis</i>	54
2.5.3. Agroproductividad de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	57
2.5.3.1 Perfil de análisis de ácidos grasos en aceite de <i>Ricinus communis</i>	58
2.5.4 Concentración de EPTs, calcio y fósforo en la parte aérea de <i>Ricinus communis</i>	59
2.5.5 Estrés oxidativo en la parte aérea de <i>Ricinus communis</i>	63
2.5.5.1 Solutos osmoprotectores en las hojas de <i>Ricinus communis</i>	63
2.5.5.2 Actividad enzimática en las hojas de <i>Ricinus communis</i>	64
2.5.5.3 Compuestos fenólicos totales en las hojas de <i>Ricinus communis</i>	66
2.5.5.4 Concentración de clorofila en las hojas de <i>Ricinus communis</i>	67
2.5.6 Frecuencia de colonización en las raíces de <i>Ricinus communis</i>	69
2.5.7 Influencia de los hongos micorrízicos en las plantas de <i>Ricinus communis</i> en el sitio de estudio.....	71
2.5.8 Correlación entre variables	79
2.5.8.1 Correlación entre las características del suelo y Pb en planta.....	79
2.5.8.2 Correlación entre la agroproductividad de las plantas y las variables del suelo rizosférico.....	81
2.5.8.3 Correlación entre la respuesta al estrés oxidativo y las variables del suelo rizosférico	83
2.5.8.4 Correlación entre los HMA, las variables del suelo rizosférico y en las plantas.....	84
2.5.9 Análisis de componentes principales	85
2.6 CONTRASTE DE HIPÓTESIS	89
2.7 CONCLUSIONES.....	90
2.8 RECOMENDACIONES	92
2.9 BIBLIOGRAFÍA CITADA	93
ANEXOS	127
Anexo 1: Solución nutritiva Hoagland baja en fósforo (Millner y Kitt, 1992).....	127
Anexo 2. Análisis longitudinal	127
PRODUCTOS DE LA TESIS	128

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Espectro de infrarrojo de aceite de ricino proveniente de siete accesiones de <i>Ricinus communis</i>	10
Figura 2.1. Fotografía y ubicación del área de estudio en el municipio de Tepetlaoxtoc, Estado de México.	32
Figura 2.2. Cinética de crecimiento de las plantas de <i>Ricinus communis</i> al crecer en sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil.	57
Figura 2.3. Efectos significativos de los hongos micorrízicos en suelo y plantas de <i>Ricinus communis</i> en un suelo contaminado con residuos de baterías ácidas de automóvil a través de 15 meses de evaluación.	72
Figura 2.4. Efecto de cinco hongos micorrízicos en la producción de aceite y peso de semillas de <i>Ricinus communis</i> a los 15 meses de crecimiento en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.	76
Figura 2.5. Influencia de hongos micorrízicos en el contenido de ácidos grasos de las semillas de <i>Ricinus communis</i> a los 15 meses de crecimiento en un residuo abandonado con baterías de automóvil.	77
Figura 2.6. Análisis de componentes principales del efecto de la inoculación en trece variables del sistema suelo-planta bajo estudio.	88
Figura 2.7. Dendograma de los diferentes tratamientos fúngicos inoculados en plantas de <i>Ricinus communis</i> en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil.	89

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Variables agroproductivas para siete accesiones de <i>Ricinus communis</i>	6
Cuadro 2.1. Características de las semillas de siete accesiones de <i>Ricinus communis</i>	7
Cuadro 2.2. Características fisicoquímicas del aceite de siete accesiones de <i>Ricinus communis</i>	9
Cuadro 2.3. Características químicas iniciales del suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.	44
Cuadro 2.4. Cinética de la caracterización química de la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	47
Cuadro 2.5. Concentración total de EPTs (mg kg^{-1}) de la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	50
Cuadro 2.6. Concentración extractable de EPTs (mg kg^{-1}) en la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	52
Cuadro 2.7. Concentración soluble de EPTs y sales (mg kg^{-1}) de la rizósfera de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	55
Cuadro 2.8. Concentración de EPTs, calcio y fósforo (mg kg^{-1}) en la parte aérea de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	60

Cuadro 2.9. Solutos osmoprotectores en la parte aérea de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	63
Cuadro 2.10. Actividad enzimática en la parte aérea de las plantas de <i>Ricinus communis</i> ..	65
Cuadro 2.11. Concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de <i>Ricinus communis</i>	67
Cuadro 2.12. Concentración de clorofila (mg g^{-1} ms) en la parte aérea de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	68
Cuadro 2.13. Frecuencia de colonización, hifas, vesículas y arbuscúlos en las raíces de las plantas de <i>Ricinus communis</i>	70
Cuadro 2.14. Correlaciones de Pearson entre las características del suelo y el Pb en planta.	80
Cuadro 2.15. Correlaciones de Pearson entre la agroproductividad de las plantas, el aceite de ricino, ácidos grasos y el suelo.....	81
Cuadro 2.16. Correlaciones de Pearson entre la respuesta bioquímica, las plantas y el suelo.....	84
Cuadro 2.17. Correlaciones de Pearson entre la respuesta de los HMA, las plantas y el suelo.....	85
Cuadro 2.18. Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable en tres componentes principales.	87

CAPITULO 1. Propiedades agroproductivas de *Ricinus communis* y caracterización fisicoquímica del aceite

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar las propiedades agroproductivas de siete accesiones de *R. communis* y características fisicoquímicas del aceite extraído de ellas como materia prima de biodiesel. La accesión SF6 tuvo el mayor número de racimos (34), número de cápsulas (1453), peso de cápsula por planta (1324 g), porcentaje de cáscara (69%) y porcentaje de aceite (48%) pero el menor tamaño de semilla (6.8 mm de diámetro medio geométrico). Las semillas de la accesión C fueron de tamaño mayor (74 g y 95 mL por 100 semillas), sin embargo, ésta tuvo el menor rendimiento de semilla (326 g por planta). Las accesiones Mir y SF7 obtuvieron el mayor peso de cápsulas por planta (1518 y 1595 g), porcentaje de semilla (49%), rendimiento de semilla (742 y 796 g) y rendimiento estimado de semilla (808 y 867 kg ha⁻¹). En cuanto a las características fisicoquímicas del aceite de ricino solo las accesiones de C, SF7 y M2 estuvieron dentro de los estándares de calidad. Sin embargo, la accesión SF7 (proveniente de sitios contaminados con residuos de mina) destaca por su elevada producción estimada de aceite (362 kg ha⁻¹). Además, el aceite de esta accesión tuvo las propiedades fisicoquímicas adecuadas para la producción de biodiesel: densidad relativa (0.96 g mL⁻¹), viscosidad (410.7 cSt), índices de refracción (1.47), de yodo (83.5 g I₂ 100 g⁻¹) y de saponificación (184.1 mg g⁻¹). Por lo tanto, SF7 tiene las características de calidad recomendadas y el potencial para la producción de biodiesel.

Palabras clave: aceite de ricino, biodiesel, higuera, morfología, rendimiento.

1.1 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El biodiesel es completamente biodegradable, no tóxico para las plantas, animales, ni seres humanos (Scholz y Nogueira, 2008). Actualmente más de 95% del biodiesel se produce a partir de aceite vegetal (Gui *et al.*, 2008). Por lo que es importante tener especies que produzcan aceite para este fin, sin competir con las fuentes de aceite comestible. En este sentido, el ricino (*Ricinus communis*) es una oleaginosa que se cultiva para la producción de aceite industrial en varios países, especialmente en India, China y Brasil (Ogunniyi, 2006). Pero su calidad depende de varios factores tales como materia prima o variedad, factores ambientales, método de extracción, entre otros (Udeozo *et al.*, 2013). Además, ésta planta crece en sitios contaminados con residuos de minas (González-Chávez *et al.*, 2014), por lo que constituye una opción para producir aceite en suelos degradados o marginales no aptos para cultivos comestibles.

Algunos autores han evaluado la productividad de diferentes plantas de *R. communis* (Machado *et al.*, 2012). Así mismo, se han reportado las características del aceite de ricino de accesiones procedentes de sitios no contaminados (Udeozo *et al.*, 2013) y contaminados con residuos de minas (González-Chávez *et al.*, 2014). Sin embargo, estos trabajos involucran solamente las características agroproductivas de la planta o las características fisicoquímicas del aceite.

1.2 OBJETIVO E HIPÓTESIS

OBJETIVO

Determinar las propiedades agroproductivas de siete accesiones de *R. communis* y características fisicoquímicas del aceite extraído de ellas como materia prima de biodiesel.

HIPÓTESIS

El aceite de las semillas de la accesión SF7 tendrá las características de calidad para su posible uso en la producción de biodiesel.

1.3 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el campo experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en el estado de México, a 2250 m de altitud y latitud 19° 29' LN y 98° 54' LO. Las siete accesiones de ricino incluidas en este estudio fueron: Ceprobi, Morelos (C); Mirante, variedad comercial en Colombia (Mir); Montecillo uno (M1) y Montecillo dos (M2), procedentes de Montecillo, estado de México. Además de tres accesiones naturalmente establecidas en sitios contaminados con residuos de mina, Zimapán, Hidalgo: San Francisco seis (SF6), San Francisco siete (SF7) y Santa María uno (SM1). Las semillas de *R. communis* de cada accesión se germinaron en arena de sílice. Después de un mes, las plántulas se trasplantaron, en el campo experimental, sin la instalación de un sistema de riego.

1.3.1 Caracterización fisicoquímica del suelo

Las muestras de suelo de la parcela experimental se recolectaron a una profundidad de 20 cm y estuvieron compuestas por cinco submuestras tomadas a lo largo del terreno, buscando que las muestras fueran representativas. Las muestras se secaron al aire y se cribaron. Posteriormente, el pH del suelo se analizó como describe Rowell (1994) y la conductividad eléctrica con el método de Rhoades (1996). La materia orgánica se determinó por el método de Walkley-Black modificado (Nelson y Sommers, 1982). La textura se cuantificó mediante el procedimiento descrito por Day (1965). La capacidad de intercambio catiónico se analizó mediante una solución extractora de acetato de amonio 1 M (Rowell, 1994). El fósforo disponible se cuantificó por el método de Olsen y Khasawneh (1980) y el nitrógeno total por el método Kjeldahl (Moreno, 1978). Las formas de nitrógeno (amonio, nitratos y nitritos) fueron determinadas mediante el procedimiento descrito por Bremner (1965). Todas las propiedades se analizaron por triplicado.

1.3.2 Agroproductividad de las plantas y características de las semillas

A los nueve meses posteriores a la siembra, se consideraron los siguientes descriptores para la caracterización de las plantas: precocidad, altura, área de goteo (tomando en cuenta cuatro radios perpendiculares de la sombra de cada arbusto), número de nudos, número de racimos por planta, longitud del primer racimo (m), peso de la cápsula por racimo (g),

porcentaje de cáscara (%), porcentaje de semilla (%), peso de las cápsulas por planta (g), rendimiento de las semillas (g) y rendimiento estimado de semilla por unidad de área (kg ha⁻¹). Para el cálculo de este último se asumió una densidad de 1089 plantas ha⁻¹. La forma y el tamaño de las semillas se determinaron con: el volumen y peso de 100 semillas, número de semillas por kg, diámetro medio aritmético (Da), diámetro medio geométrico (Dg), esfericidad (Mohsenin, 1986) y volumen de cada semilla (cm³; Jain y Bal, 1997). El contenido de aceite de ricino cuantificó, después de extraer con un extractor de grasas y aceites Soxhlet con hexano (100 mL) como lo describe Ruíz-Olivares *et al.* (2013). Este dato permitió calcular la producción estimada de aceite por unidad de área (kg ha⁻¹).

1.3.3 Propiedades fisicoquímicas del aceite de ricino

Para el análisis fisicoquímico del aceite se consideraron: índice de refracción con refractómetro marca ATAGO RX-5000 (NMX-F-074-SCFI-2011), densidad (NMX-F-075-SCFI-2012) con picnómetros de 10 mL a 20 °C, viscosidad (ASTM D445-2006) determinada con viscosímetro marca Cannon-Freske No. 300 a 40 °C. El índice de acidez (NMX-F-101-SCFI-2006) y saponificación (NMX-F-174-S-2006) se evaluaron por titulación y el índice de yodo (NMX-F-152-SCFI-2011) por el método del ciclohexano.

Se observaron los espectros de infrarrojos de la muestra extraída de aceite de ricino en la región de 4000 a 400 cm⁻¹, en un espectrofotómetro Perkin Elmer-IR (modelo 1600 FTIR). Se identificaron los picos de los espectros obtenidos que mostraron los grupos funcionales presentes de las muestras.

1.3.4 Análisis de los datos

En este estudio se utilizó un diseño en bloques al azar con diez repeticiones para las accesiones de *R. communis*. Para interpretar las variables cuantitativas se aplicó un análisis de varianza y en aquellos casos en donde se detectaron diferencia significativa entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Además se realizaron correlaciones de Pearson ($\alpha = 0.05$) para relacionar variables.

1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.4.1 Caracterización fisicoquímica del suelo

El suelo tuvo pH ligeramente alcalino (7.4 ± 0.1), lo que en teoría debe permitir el óptimo desarrollo de la planta. La conductividad eléctrica fue de $508.8 (\pm 73) \mu\text{mhos cm}^{-2}$, o sea que no se presentan problemas de salinidad que pudieran interferir en el crecimiento de la planta. La materia orgánica presentó valores relativamente bajos ($2.2\% \pm 0.7$). Por otra parte, la capacidad de intercambio catiónico fue alta ($25.6 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$). El suelo es de textura arenosa (64% de arena, 20% de limo y 16% de arcilla). La concentración de nitrógeno fue elevada (12.7 mg kg^{-1} de amonio, 38.8 mg kg^{-1} de nitratos y 29.8 mg kg^{-1} de nitritos) según Moreno (1978). El contenido de fósforo disponible en el suelo fue alto (25.7 mg kg^{-1}) según CSTPA (1980).

1.4.2 Agroproductividad de las plantas

Mir fue la accesión más precoz (214-230 días) en la formación de cápsulas maduras, seguida de SF6 (223-275 días). En contraste, SF7 y C presentaron maduración de las cápsulas más tardía (291-302 días). Sin embargo, estadísticamente ninguna de las accesiones tuvo diferencia significativa entre los días de cosecha. Pero tener un periodo prolongado de producción de semillas tiene implicaciones prácticas para el manejo del cultivo, como restricciones para la poda o definir una fecha fija de cosecha con mínimas pérdidas. Las variables agroproductivas se muestran en el Cuadro 1.1. La altura de los arbustos fue estadísticamente igual en todas las accesiones (1.8 y 2.1 m). Esta variable es importante, ya que la cosecha se dificulta cuando la planta es de porte alto (Scholz y Nogueira, 2008). Sin embargo, esta variable depende de la temperatura y disponibilidad de agua (Kumar *et al.*, 1997). La accesión M2 tuvo el mayor número de nudos (21.9 nudos) y las accesiones Mir, SF6 y SF7 tuvieron los valores más bajos (9.6, 11.1 y 12.6 respectivamente). Esta diferencia podría deberse a las condiciones ambientales y la variedad (Kumar *et al.*, 1997). En cuanto al área de goteo, las accesiones C, SF7 y M2 y fueron estadísticamente superiores a las demás plantas, por ser plantas de mayor de follaje, lo que las hace más competitivas por luz. Es necesario mencionar que el autosombreado sobre las hojas puede disminuir la actividad fotosintética (Falasca *et al.*, 2012) y tener efecto en el tiempo de maduración de las semillas. Las accesiones con el mayor número de

racimos fueron SF6 y Mir que superaron estadísticamente a C, SF7, M1, M2 y SM1 en esta variable. La mayor longitud de racimo se mostró en C y SF7. Aunque las accesiones SF6 y Mir fueron las que tuvieron el valor mayor del número de cápsulas (1357 y 978). Lo cual, refleja el rendimiento de semilla (Machado *et al.*, 2012).

El mayor peso de cápsulas por planta se presentó en Mir, SF6 y SF7. Pero el mayor peso de cápsulas por racimo fue para C y SF7. Las accesiones Mir, SF7 y M2 tuvieron el mayor porcentaje de semilla y menor porcentaje de cáscara. Sin embargo, las accesiones con mayor rendimiento de semilla por planta y rendimiento estimado de semilla por área fueron Mir y SF7. El cual fue mayor que lo reportado por Machado *et al.* (2012), estos autores reportaron el mayor rendimiento estimado de 4 398 kg ha⁻¹ en 14 cosechas (314 kg ha cosecha⁻¹). La condición en la que se desarrollaron las accesiones de *R. communis* fue en temporal, lo cual también pudo haber limitado la producción de cápsulas (Kumar *et al.*, 1997). Así mismo, se encontraron diferentes correlaciones entre variables, pero en este análisis destacaron: el peso de cápsulas por planta vs. el rendimiento de semillas (0.9126 Pr=0.0001) y el número de frutos vs. número de racimos (0.8562 Pr=0.0001).

Cuadro 1.1. Variables agroproductivas para siete accesiones de *Ricinus communis*.

Clave	No. de nudos	A. de goteo (m ²)	No. de racimos	L. de racimo (cm)	No. de cápsulas	Cápsulas por planta (g)	Rend. de semillas (g)	Rend. est * (kg ha ⁻¹)
C	14.8 bc	4.4 ab	8 b	51 a	239 b	921 bcd	326 c	258 c
Mir	9.6 d	3.6 b	33 a	35 b	978 a	1518 ab	742 ab	808 ab
SF6	11.1 cd	3.7 b	34 a	42ab	1357 a	1324 abc	415 bc	452 bc
SF7	12.6 cd	4.1 ab	13 b	49 a	415 b	1595 a	796 a	867 a
M1	17.2 b	3.1 b	8 b	27 c	303 b	605 c	237 c	355 c
M2	21.9 a	5.8 a	11 b	38 bc	353 b	729 cd	392 bc	427 bc
SM1	17.2 b	3.2 b	13 bc	22 c	540 b	866 cd	346 c	377 c

No: Número, A. área L.: longitud (racimo principal), Rend: rendimiento, est: estimado de semilla. *Se asumió una densidad de 1089 plantas ha⁻¹. Se presentaron valores promedio, n=10. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa según Tukey (p< 0.05).

1.4.3 Características de las semillas

La accesión con mayor peso y volumen por semilla fue C (74 g), mientras que SF6 y SM1 tuvieron 17 y 27 g por 100 semillas (Cuadro 2.1). Así mismo, C fue la accesión con las semillas más grandes (12.5 mm de Da y 11.7 mm de Dg). Contradictoriamente, esta accesión presentó menor rendimiento de semilla (326 g por planta), debido al bajo número de racimos, cápsulas y peso de cápsulas por planta (Cuadro 2.1). Las semillas con menor tamaño fueron de la accesión SF6, que tuvieron los valores más bajos de Da y Dg. El peso de las semillas de las accesiones SF7 y SF6 tuvo valores similares a los reportados por Ruíz-Olivares *et al.* (2013), para estos mismos materiales crecidos naturalmente en suelos contaminados con residuos de mina. Aunque los porcentajes de aceite (61% para SF7 y 41% para SF6) fueron más altos que los obtenidos en este trabajo. Esta diferencia puede deberse a la baja temperatura en este experimento (Kumar *et al.*, 1997). Las accesiones con mayor contenido de aceite fueron SF6 y SM1 (48% y 46% de aceite), en contraste con M2 y C (31% y 35%). Mientras que las demás accesiones presentaron contenidos de aceites de 37% a 39%. Sin embargo, Mir y SF7 tuvieron la mayor producción estimada de aceite por área (362 y 287 kg ha⁻¹), lo que implica mayor eficiencia por unidad de superficie de cultivo.

Cuadro 2.1. Características de las semillas de siete accesiones de *Ricinus communis*.

Clave	Peso seco de semillas (g)	Volumen de semillas (mL)	No. de semillas por kg	Diámetro aritmético (mm)	Diámetro geométrico (mm)	Contenido de aceite (%)	Producción est. de aceite* (kg ha ⁻¹)
C	74 a	95 a	1359 c	12.5 a	11.7 a	35cb	110 c
Mir	36 c	40 c	2750 c	9.3 c	8.7 c	37 b	287 ab
SF6	17 e	18 e	5749 ab	7.2 f	6.8 f	48 a	203 bc
SF7	55 b	62 b	1803 c	10.9 b	10.3 b	39 b	362 a
M1	27 d	29 d	3535 bc	8.6 e	8.2 e	39 b	87 c
M2	28 d	29 d	3591 bc	8.8 d	8.4 d	32 c	139 c
SM1	17 e	19 e	6203 a	8.1 e	7.7 e	46 a	151 c

Est: estimada. *Se asumió una densidad de 1089 plantas ha⁻¹. Se presentaron valores promedio, n=10. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa según Tukey (p< 0.05).

1.4.4 Características fisicoquímicas del aceite de ricino

El índice de refracción fue de 1.47 en todas las accesiones (Cuadro 2.2). Lo cual, concuerdan con los valores reportados por American Standards for Testing and Materials (ASTM, 2008). Los aceites con mayor densidad relativa (D_r) fueron los provenientes de C, SF7, M1 y M2 (0.96 g mL^{-1}). Estos valores están dentro de los estándares de calidad (ASTM, 2008) para aceite de ricino, en contraste Mir y SF6 no cumplen con este requisito. El aceite con mayor viscosidad (V) fue el de la accesión de SF6 (425 cSt) y el menor fue C (392 cSt). Las demás accesiones presentaron una V similar, en promedio de 407 cSt. Sin embargo, estos los valores están por arriba del intervalo reportado por Scholz y Nogueira (2008; 240-300 cSt) y ASTM (2008; 297 cSt a $40 \text{ }^\circ\text{C}$) para el aceite de ricino de todas accesiones. Sin embargo, a mayor V de la materia prima, mayor será la lubricación del biodiesel. Además, la comparación de V en otros trabajos es difícil porque los análisis no se realizaron a $40 \text{ }^\circ\text{C}$. El índice de acidez (I_a) se mantuvo en un intervalo amplio entre 0.5 a 2.5 mg g^{-1} . En cuanto al índice de yodo (I_y), los valores tuvieron poca variación $82\text{-}84 \text{ g I}_2$ 100 g^{-1} . Todas las muestras analizadas tuvieron el I_a y el I_y dentro del intervalo recomendado por la ASTM (2008) en contraste con los altos valores de I_y de moringa y el I_a de nim (Zaku *et al.*, 2012), cuantificados bajo otras condiciones. En el índice de saponificación (I_s) se detectaron valores desde 184 hasta 191 mg g^{-1} , pero no hubo diferencia significativa entre las accesiones. Las accesiones que cumplen con los estándares de calidad propuestos la ASTM para el aceite de ricino fueron C, SF7 y M1.

Por otra parte, se determinó el espectro IR ($400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$) de las muestras de aceite de ricino. En la Figura 1.1 se encuentran las flexiones de C-H equivalentes a las fluctuaciones del grupo funcional CH_2 (2840 y 2915 cm^{-1} ; inciso c) el cual es parte de la estructura hidrocarbonada de los ácidos grasos. La vibración en 1742 cm^{-1} corresponde al grupo $\text{C}=\text{O}$ (e). El de metil éster ($\text{O}-\text{CH}_3$) corresponde a la deformación en 1438 cm^{-1} (g). La variación en la intensidad de la banda, puede atribuirse a la variación en la proporción de este grupo funcional del aceite producido por las accesiones (Figura 1.1). Además de la banda característica del triglicérido ($-\text{O}-\text{CH}_2-$) en 1031 cm^{-1} (j). Se localizaron las fluctuaciones de la deformación (δ) del grupo $(\text{CH}_2)_x$ a 710 cm^{-1} (l). Lo cual confirmó el patrón

característico y la pureza de aceite de ricino, además, estos resultados fueron similares a lo reportado por Imankulov (2012).

Cuadro 2.2. Características fisicoquímicas del aceite de siete accesiones de *Ricinus communis*.

Clave	Densidad relativa (g mL ⁻¹)	Viscosidad (cSt a 40 °C)	Índice de acidez (mg g ⁻¹)	Índice de yodo (g I ₂ 100 g ⁻¹)	Índice de saponificación (mg g ⁻¹)
C	0.96 a	392 c	0.5 c	83 a	184 a
Mir	0.94 c	407 b	1.2 b	82 a	186 a
SF6	0.92 d	425 a	1.2 b	84 a	191 a
SF7	0.96 a	411 b	2.5 a	83 a	184 a
M1	0.96 a	402bc	0.7 bc	84 a	185 a
M2	0.96 a	404 bc	0.8 bc	83 a	189 a
SM1	0.95 b	408 b	0.7 bc	83 a	191 a
ASTM †	0.95-0.96	297	0.4-4.0	82-88	175-187
Ricino ††	0.92	81.95 ¶¶	12.48	287	164
Jatropha ††	0.92	88.15 ¶¶	8.43	394	192
Nim††	0.93	88.40 ¶¶	17.40	369	186
Moringa††	0.90	49.96 ¶¶	4.96	420	188

Letras por columna muestran diferencia significativa según Tukey ($p < 0.05$). Se presentaron valores promedio, $n=10$. † ASTM, 2008. †† Citado por Zaku *et al.* (2012). ¶¶ Unidades en mPa.

La accesión SF7 es de mayor interés, por sus estándares de calidad, también porque puede producirse en sitios contaminados con varios elementos potencialmente tóxicos (Cu, Cd, Zn y Pb; González-Chávez *et al.*, 2014). Por lo cual, la accesión SF7 representa una alternativa para la fitorremediación de sitios contaminados y la producción de materia prima para aceite crudo o biocombustibles. Cuando se considera que además de rehabilitar sitios contaminados debe usarse plantas con algún potencial productivo, como la producción de aceite, la accesión SF7 parece ser la mejor. Lo anterior puede representar mayor valor económico, ecológico y paisajístico de sitios contaminados, por lo que esta accesión se

recomienda para la plantación masiva y evaluar su comportamiento agronómico bajo estas condiciones.

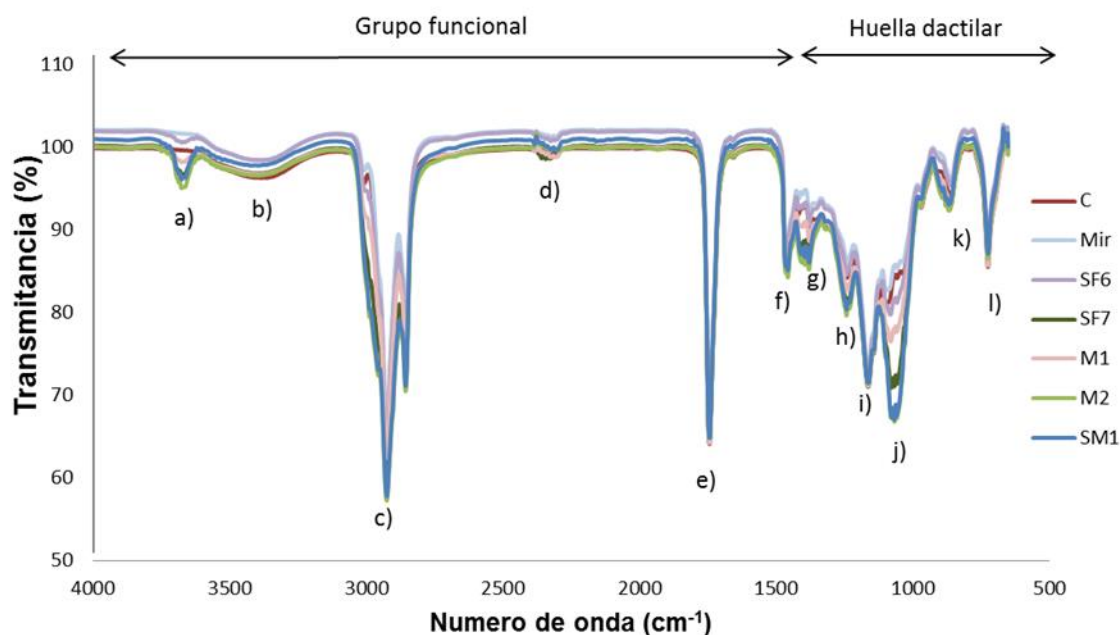


Figura 1.1 Espectro de infrarrojo de aceite de ricino proveniente de siete accesiones de *Ricinus communis*. Las bandas se dividen en grupos funcionales y huella dactilar. Las cuales corresponden a los siguientes grupos funcionales: a) OH, b) OH-, c) -CH₂-, d) CO₂, e) C=O, f) C=O, g) O-CH₃, h) C=CH, i) O-CH₃, j) -O-CH₂-, k) -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- y l) (CH₂)_x.

1.5 CONTRASTE DE HIPÓTESIS

La hipótesis de este capítulo fue: el aceite de las semillas de la accesión SF7 tendrá las características de calidad para su posible uso en la producción de biodiesel. Esta hipótesis se acepta debido a que la accesión SF7 tuvo las características adecuadas de pureza, densidad relativa, viscosidad, índices de refracción, de acidez, de yodo y de saponificación para la producción de biodiesel y mayor rendimiento de semilla y aceite por unidad de área.

1.6 CONCLUSIONES

Las siete accesiones de *R. communis* estudiadas poseen características agroproductivas que las diferencian entre sí. Sin embargo, la accesión SF7 (proveniente de sitios contaminados con residuos de mina) tuvo el racimo principal de mayor longitud. A pesar, que no presentó

muchos racimos, obtuvo el mayor rendimiento estimado de semillas, las cuales fueron grandes y con alta producción estimada de aceite. Además de las características adecuadas de pureza, densidad relativa, viscosidad, índices de refracción, de acidez, de yodo y de saponificación. Por lo tanto, SF7 tiene las características de calidad recomendadas y el potencial para la producción del biodiesel. Futuros trabajos deberían realizarse en sitios contaminados con metales pesados para evaluar su desempeño agroproductivo, su capacidad de fitorremediación y los posibles servicios ambientales de su manejo en estos sistemas. También deben buscarse reducir el periodo de maduración de semillas y mejorar el porte de la planta para facilitar la mecanización de la cosecha y optimizar el tiempo de producción.

1.7 BIBLIOGRAFÍA CITADA

ASTM, American Standards for Testing Materials. 2008. <http://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D6751-08.htm>.01/01/ 2016.

ASTM D445-2006. American Standards for Testing Materials. 2011. Standard test method for kinematic viscosity of transparent and opaque liquids.

Bremner, J. M. 1965. Inorganic forms of nitrogen. Methods of soil analysis. *In*: Black C. A. (ed.), Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. Pp: 1179-1237.

CSTPA, Council on Soil Testing and Plant Analysis. 1980. Handbook on reference methods for soil testing. Council soil testing and plant analysis. Athens Georgia, USA.459 p.

Day P. R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis *In*: Methods of Soil Analysis. Black C. A. (ed). Agronomy. pp: 545-567.

Falasca S. L., Ulberich A. C., and E. Ulberich. 2012. Developing an agro-climatic zoning model to determine potential production areas for castor bean (*Ricinus communis* L.). *Ind. Crops. Prod.* 40: 185-191.

González-Chávez M. C. A., Ruíz-Olivares A., Carrillo-González R., and E. Ríos-Leal. 2015. Crude oil and bioproducts of castor bean (*Ricinus communis* L.) plants established naturally on metal mine tailings. *Int. J. Environ. Sci. Te.* 12: 2263-2272.

Gui M. M., Lee K. T., and S. Bhalia. 2008. Feasibility of edible oil vs. non-edible oil. Waste edible oil as biosiesel. *Energy.* 33: 1646-1653.

Imankulov N. 2012. Preparation and research on properties of castor oil as a diesel fuel additive. *Appl. Technol. Innov.* 1: 30-37.

Jain R. K., and S. Bal. 1997. Properties of pearl millet. *J. Agr. Eng. Res.* 66: 85-91.

Kumar P. V., Ramakrishna Y. S., V Ramana R. B., Victor U. S., Srivastava N. N., and R. A. V. M. Subba. 1997. Influence of moisture, thermal and photoperiodic regimes on the productivity of castor beans (*Ricinus communis* L.). *Agric. For. Meteorol.* 88: 279-289.

Machado R., Suárez J., and A. Marlen. 2012. Caracterización morfológica y agroproductiva de procedencias de *Ricinus communis* L. para la producción de aceite. *Pastos Forrajes.* 4:381-392.

Moreno D. R. 1978. Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrientes asimilables. INIA-SARH, México, D.F.

Mulvaney, R.L. (1996). Nitrogen-Inorganic Forms. In *Methods of soil analysis. Part-3-Chemical Methods.* SSSA, Inc., ASA, Inc. Madison, WI. P. 1123-1184.

Nelson D. W., and L. E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. *In: Methods of Soil Analysis.* Page A. L., Miller R. H., and D. R. Keeney (eds). American Society of Agronomy. Madison. pp: 539-579.

NMX-F-074-SCFI-2011. Norma Mexicana. 2011. Determinación del índice de refracción.

NMX-F-075-SCFI-2012. Norma Mexicana 2012. Determinación de la densidad relativa.

NMX-F-101-SCFI-2006. Norma Mexicana 2006. Determinación de ácidos grasos libres.

NMX-F-152-SCFI-2011. Norma Mexicana 2011. Determinación del índice de yodo.

NMX-F-174-S-2006. Norma Mexicana 2006. Determinación del índice de saponificación.

Ogunniyi D. S. 2006 Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource. Technol.* 97: 1086-1091.

Olsen S. R., and F. E. Khasawneh. 1980. Use and limitations of physical chemical criteria for assessing the status of phosphorus in soils, the role of phosphorus in agriculture. *In: Khasawneh F. E., Sample E. C., and E. I. Kamprath (eds). Madison. pp: 361-410.*

Perdomo E. C., Acosta-Osorio F. A., Herrera A. A., Vasco-Leal G., Mosquera-Artamonov J. F., Millan-Malo J. D. and M. E. Rodríguez-García. 2013. Physicochemical characterization of seven Mexican *Ricinus communis* L. seeds and oil contents. *Biomass.Bioenerg.*48: 17-24.

Rhoades J. D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. *In: Methods of Soil Analysis. Chemical Methods.* Sparks D. L. (ed). Soil Science Society of America. Madison. pp: 417-435.

Rowell D. L. 1994. *Soil Science. Methods and Applications.* Longman, UK. 35 p.

Ruíz-Olivares A, Carrillo-González R., Marcos Soto R., and M. C. A. González-Chávez. 2013. Potential of *Ricinus communis* L. in phytoremediation and oil production. *J. Environ. Manage.* 114: 316-323.

Scholz V., Nogueira J. 2008. Prospects and risks of the use of castor oil as a fuel. *Biomass.Bioenerg.* 32:95-100.

Tchuenteu T. L., Megueni C., and Y. N. Njintang. 2013. A study of the variability for grain and oil yield and yield related traits of castor beans accessions in two savannah agro-ecological zones of Cameroon. *Int. J. Biosci.* 8: 251-263.

Udeozo I. P., Okafor C. M., Chukwumeka I. M., and P. E. Eze-Stephen. 2013. Extraction and characterization of castor seed oil (*Ricinus communis*) from Isiala Mbano, Imo State, Nigeria. *World J. Pharm. Sci.* 4: 1186-1193.

Zaku S. A., Emmanuel A. H. I., and A. Kabir. 2012. Comparative studies on the functional properties of neem, jatropha, castor, and moringa seeds oil as potential feed stocks for biodiesel production in Nigeria. *Global Journals Inc.* 7: 23-26.

CAPITULO 2. Fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil mediante el uso de *Ricinus communis* y hongos micorrízico arbusculares

RESUMEN

El reciclaje de baterías ácidas de automóvil puede generar residuos con plomo (Pb). Debido a esto se proponen técnicas biológicas útiles para el saneamiento de los suelos contaminados con ayuda de plantas y microorganismos. El objetivo de este capítulo fue analizar la respuesta de *Ricinus communis* y hongos micorrízico arbusculares en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil (RBA) para su posible uso en la fitorremediación. Se diseñó un experimento con cuatro hongos micorrízico arbusculares (*Acaulospora* sp.; *Gigaspora gigantea*, *Funneliformis mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp.) y un tratamiento sin inocular. Se realizaron tres muestreos a diferente edad de la planta (5, 10 y 15 meses). En el suelo rizosférico se analizó la concentración total (CT_{Pb}) y extractable con DTPA ($DTPA_{Pb}$). Se cuantificó la agroproductividad de las plantas y en las semillas se analizó el porcentaje de aceite y de ácidos grasos (AG). En el follaje de las plantas se determinó la concentración de Pb ($Pb_{aérea}$) y algunas variables bioquímicas: azúcares solubles totales (AST), prolina, compuestos fenólicos totales (CFT), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y de ascorbato peroxidasa (APX). Se cuantificó la colonización micorrízica (CM) en las raíces de las plantas. La CT_{Pb} y $DTPA_{Pb}$ inicial fue muy alta (41,893 y 6,246 mg kg⁻¹) en relación con el límite permisible en la NOM-147 y 021. Las plantas presentaron 37 g de semilla con 43% de aceite de ricino. La concentración de AST (12%) y prolina (7 µM g⁻¹ materia fresca), así como la actividad de SOD (2.9 U mg⁻¹ materia seca) y APX (0.6 U mg⁻¹ materia seca) tuvieron valores menores a los 15 meses, en relación a los otros meses. La CM fue mayor en las plantas inoculadas (44%) en comparación con las testigo (22%). La rizosfera de las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 tuvieron menor $DTPA_{Pb}$ (2,904 mg kg⁻¹), en comparación con la de las plantas testigo (4,531 mg kg⁻¹) y las plantas inoculadas con *Glomus* sp. (3,546 mg kg⁻¹). En contraste, las plantas testigo acumularon mayor $Pb_{aérea}$ (234 mg kg⁻¹) que las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. (70 mg kg⁻¹). El porcentaje de CFT fue mayor (24%) en las plantas sin inocular que en las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 (18%) y *Glomus* sp. (13%). Las plantas inoculadas con *Gi. gigantea* tuvieron mayor porcentaje de aceite (46%) en comparación con las plantas testigo (40%). *Acaulospora* sp. incrementó el porcentaje de ácido palmítico (0.8%), oleico (2.5%) y linoleico (1.2%) en el aceite en las semillas de las plantas, en comparación con estos AG presentes en las semillas de las plantas sin inocular (0.2, 1.1 y 0.2%). Los resultados muestran que *F. mosseae* BEG-25 y *Acaulospora* sp. asociados a *R. communis* tienen potencial para estabilizar Pb en suelos contaminados con RBA, además de favorecer el rendimiento de la planta y la calidad de su aceite.

Palabras clave: fitoestabilización, higuerilla, metales pesados, plomo, ricino.

2.1 INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental que los elementos potencialmente tóxicos (EPTs) ocasionan es un problema importante a nivel mundial. El término EPTs incluye tanto elementos esenciales (Cr, Cu, Mn, Ni, Se y Zn,) como no esenciales (As, Cd y Pb); los que a ciertas concentraciones son tóxicos para los organismos vivos (Alloway, 1995). La presencia de EPTs se debe principalmente a actividades que aportan cantidades importantes de estos contaminantes. Por ejemplo: la industria de baterías de automóvil emplea aproximadamente 70% del Pb que se utiliza en todo el mundo (Paoliello *et al.*, 2002). Sin embargo, el reciclaje mal realizado de baterías es una de las formas primarias de contaminación de Pb no solo en el suelo, sino también para la vegetación, el agua, el aire y los animales (Cecchi *et al.*, 2008). El Pb puede causar efectos nocivos para la salud humana; el cual ingresa al organismo por ingestión o inhalación y se acumula en todos los órganos, especialmente en los huesos (Chen *et al.*, 2007). La exposición prolongada puede afectar el sistema nervioso central, cuyos efectos van desde sutiles cambios psicológicos y de comportamiento, hasta graves efectos neurológicos, siendo los niños; la población en mayor riesgo (Fewtrell *et al.*, 2004). En plantas, el Pb provoca disminución del crecimiento, de la fotosíntesis, altera la nutrición y el equilibrio del agua, provoca cambios en el estado hormonal y afecta a la estructura de la membrana celular (Sharma y Dubey, 2005). Debido a la toxicidad y la alta persistencia de Pb, el suelo contaminado con este EPT es un problema ambiental que requiere una solución eficaz y económica (Freitas y Nascimento, 2016).

Entre las tecnologías convencionales que se utilizan para manejar o descontaminar los suelos contaminados con EPTs se encuentran: la inmovilización, solidificación (vitrificación, estabilización y micro-encapsulación), lavado de suelos y sistemas electroquímicos (EPA, 1997). En el caso del suelo contaminado con residuos de batería de automóvil se ha propuesto la recuperación de estos sitios mediante lavados con agentes quelantes o ácidos en solución (Nedwed y Cifford, 2000; Freitas y Nascimento, 2016) en Estados Unidos y Brasil. Sin embargo, estos métodos pueden alterar de manera irreversible el suelo, el agua y los seres vivos, además suelen ser muy costosos y tienen limitada eficacia. Debido a esto se han propuesto técnicas útiles para el saneamiento de este tipo de

suelos mediante el uso de plantas. Este proceso se denomina fitorremediación y tiene como principal objetivo reducir los riesgos de exposición de Pb o de otros EPTs (González-Chávez *et al.*, 2004). Como una alternativa dentro de la fitorremediación se encuentra la fitoestabilización; la cual consiste en la inmovilización de estos contaminantes en las raíces de las plantas o su precipitación en la rizósfera (Joner *et al.*, 2000; Padmavathiamma y Li, 2007). Algunas de las especies vegetales son capaces de tolerar concentraciones excesivas de EPTs gracias a que presentan mecanismos de defensa, como los componentes inespecíficos y enzimáticos (Thirupathi *et al.*, 2011). Entre los mecanismos inespecíficos se encuentran: la síntesis de sustancias osmóticamente activas, azúcares solubles, aminoácidos, fenoles, entre otros (Seregin e Ivanov, 2001). Los mecanismos enzimáticos involucran la activación de procesos bioquímicos para reducir el daño tóxico de los contaminantes. Los antioxidantes enzimáticos incluyen a la superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APX) (Sharma y Dubey, 2005). Algunos estudios muestran que *Ricinus communis* (ricino) es una de las plantas altamente tolerantes a varios contaminantes (Ruíz-Olivares *et al.*, 2013), tales como el Pb y las sales derivados de los residuos de batería de automóvil (Schneider *et al.*, 2016). Esta oleaginosa se adapta a varias condiciones edafoclimáticas, mejora la calidad del suelo, participa en el secuestro de carbono y se comporta como planta exclusora de Pb, es decir lo mantiene estabilizado en la raíz sin transferirlo a la parte aérea vegetal (Ruíz-Olivares *et al.*, 2013; González-Chávez *et al.*, 2015). Además, el aceite que produce esta planta en las semillas se considera fuente de materia prima para varios procesos en la industria (Goodarzi *et al.*, 2012). Cuellar Sánchez *et al.* (2016) reportaron una accesión mexicana de *R. communis* (SF7), aislada de un sitio contaminado con residuos de mina, la cual presentó características agro-productivas de mayor interés y adecuada calidad del aceite obtenido de las semillas. Las características de esta accesión muestran su potencial para aplicarse en la fitorremediación de Pb.

La aplicación de enmiendas orgánicas y microorganismos puede mejorar la eficiencia de la fitorremediación de EPTs (Chen *et al.*, 2003; Perea-Vélez *et al.*, 2015), además de ser importante para modificar la actividad de EPTs (Kidd *et al.*, 2009). Entre los microorganismos se encuentran los hongos micorrízico arbusculares (HMA; Göhre y Paszkowski, 2006). Estos hongos influyen en los mecanismos de tolerancia de las plantas a

EPTs (Hildebrandt *et al.*, 2007) y podrían incrementar la tolerancia al Pb, impedir la traslocación de éste a la parte aérea de las plantas y mejorar la absorción de nutrientes del suelo (Göhre y Paszkowski 2006). Así mismo, los HMA modifican en las plantas la síntesis de sustancias osmóticamente activas, compuestos fenólicos y enzimas antioxidantes (Porcel y Ruiz-Lozano, 2004; Yang *et al.*, 2015) para incrementar la tolerancia a Pb. Aunque estos mecanismos dependen del tipo de hongo, la especie vegetal y las características del suelo (Sylvia y Williams, 1992; Wang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010). Se sabe que los HMA son capaces de formar asociaciones simbióticas con *R. communis* al crecer en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (Schneider *et al.*, 2016). Sin embargo, la respuesta y la función tanto de los HMA, como de las plantas de ricino en este tipo de sitios no está documentada. El objetivo del trabajo fue analizar la respuesta de *Ricinus communis* y HMA en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil para su posible uso en la fitorremediación.

2.2 ANTECEDENTES

2.2.1 Contaminación con residuos de baterías de automóvil

La batería de automóvil consiste en una caja de plástico que rodea a las placas de Pb sumergidas en solución acuosa de PbO y H₂SO₄. La batería se recarga constantemente pero con el tiempo se desgasta y deja de almacenar energía, por lo que se desecha. La industria mundial de baterías de automóvil emplea aproximadamente 70% del Pb que se utiliza en todo el mundo (Paoliello *et al.*, 2002). El reciclaje de este tipo de baterías se considera importante, ya que puede recuperarse 98% de Pb (Small *et al.*, 1995). Un proceso típico para el reciclaje de Pb de estas baterías incluye la ruptura de la caja de plástico, la recolección de la solución de H₂SO₄, que contiene el PbO; la separación de los componentes que contienen Pb (para su fundición para eliminar impurezas) y su recuperación (Faé *et al.*, 2011).

En México, en 2011 había 21 fábricas de reciclaje de baterías de automóvil registradas, con una capacidad de más de 800,000 t de baterías por año (Gottesfeld y Pokhrel, 2011). Entre 30 y 60% de las baterías procedían de los Estados Unidos. Sin embargo, esta actividad genera residuos peligrosos (NOM-052-SEMARNAT-2005), debido a que los desechos

contienen características tóxicas, explosivas, reactivas y corrosivas. Entre los residuos se encuentran los elementos potencialmente tóxicos (EPTs). Sin embargo, no hay un registro de los volúmenes de residuos producidos, ni de su manejo o confinación. Por lo tanto, el manejo inadecuado de los residuos representa riesgo ambiental y para la salud humana (Lima y Bernardez, 2011). El principal problema con estos residuos es que son fuente importante de contaminación de Pb en el suelo (Cecchi *et al.*, 2008). Por ejemplo, en Florida, Estados Unidos, en una planta abandonada de reciclaje de baterías, que funcionó durante 10 años, se reportó que la concentración total de Pb en el suelo varió de 2 a 85,600 mg kg⁻¹ en suelo (Trnovsky *et al.*, 1997). Además, este tipo de sitios contaminados pueden contener alta concentración de Sb, Cu, Ag, As, Cd y Se (Trnovsky *et al.*, 1997; Coya *et al.*, 2000). En cuanto a los residuos sólidos producidos por esa actividad se encuentran los siguientes compuestos: el Fe₂O₃ (40.7%), SO₃ (27.5%), Na₂O (17.8%), SiO₂ (5.2%), PbO (3.4%) y CaO (1.5%) (Barcos-Arias *et al.*, 2014).

En México, no se tiene registro de la cifra exacta de los sitios contaminados a causa del reciclaje de baterías de automóvil, debido a que muchas fábricas están en funcionamiento sin autorización legal, ni certificados ambientales. Sin embargo, Quintanar-Escorza *et al.* (2007) reportaron el efecto de la intoxicación por Pb en 15 trabajadores de una fábrica de reciclaje de baterías de automóvil en Guanajuato, México. Estos autores mencionaron que la concentración de Pb en sangre de los trabajadores fue de $74 \pm 22 \mu\text{g dL}^{-1}$. También, estos autores reportaron daño en los eritrocitos.

2.2.2 Toxicidad por Pb

El principal problema de la contaminación por Pb es que éste se acumula en los seres vivos y su concentración se magnifica a lo largo de la cadena alimenticia (Halliwell *et al.*, 2000). La vía de entrada del Pb suele ser la respiratoria o por la ingestión de alimentos y agua contaminados (Zhuang *et al.*, 2009). En seres humanos, el Pb puede causar efectos nocivos como: trastornos neurológicos, hematológicos (anemia), endocrinos (inhibición del crecimiento), renales y efectos cancerígenos (Fewtrell *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2007). En bebés y niños, el Pb puede ocasionar retardo en el desarrollo físico o mental, déficit de atención y capacidad de aprendizaje (WHO, 1997). En el suelo, este EPT tiene impacto

negativo en las poblaciones microbianas (Akmal *et al.*, 2005). En las plantas, el Pb puede entrar en la raíz a través de la difusión pasiva y causar los síntomas específicos de toxicidad. Entre los que se pueden mencionar, inhibición del crecimiento de la raíz, retraso en el crecimiento de la planta y clorosis (Sharma y Dubey, 2005). Cuando el Pb entra en las células de la planta produce varios efectos adversos en los procesos fisiológicos, uno de ellos es la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO) tales como, los radicales superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Thirupathi *et al.*, 2011). Éstos pueden causar la peroxidación lipídica, daños de la membrana y estrés oxidativo (Sharma y Dietz, 2009). El aumento de la concentración de Pb en las plantas que crecen en sitios contaminados aumenta el riesgo de incorporarse a la cadena alimenticia (Rattan *et al.*, 2005).

2.2.3 Plantas y residuos de batería de automóvil

Existen pocos registros de las plantas que crecen en sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil. En Brasil, Sheider *et al.* (2016) reportaron 20 especies de plantas que crecen naturalmente en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil, como: *Vetiveria zizanioides*, *Pteris vitata*, *Pteridim aquilinun* y *Ricinus communis*. En Nigeria, Onianwa y Fakayode (2000) cuantificaron la acumulación de Pb (970 mg kg^{-1}) en plantas nativas de *Chromolaena odorata* que crecen en sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil. Gomes *et al.* (2014) propusieron utilizar a las plantas vetiver (*Vetiveria zizanioides*) y ricino (*Ricinus communis*) como indicadores de contaminación en este tipo de residuos. Lima *et al.* (2015) analizaron la concentración de Pb en plantas de zanahoria (*Daucus carota*), kale (*Brassica oleracea*), oca (*Abelmoschus esculentus*) y lechuga (*Lactuca sativa*) en sitios contaminados con este tipo de residuos. Estos autores reportaron que la zanahoria acumuló mayor concentración de Pb (26 mg kg^{-1}) en comparación a las otras especies vegetales, lo cual fue superior a las concentraciones normales en los vegetales en sitios no contaminados (Kabata-Pendias, 2011). La acumulación de Pb por las plantas es generalmente el primer paso para la entrada de éste en la cadena alimenticia (Wierzbicka y Antosiewicz, 1993). Por lo cual, la remediación de los sitios contaminados es indispensable para minimizar los riesgos ambientales y para los seres vivos.

2.2.4 Remediación de sitios contaminados

Las estrategias de remediación se pueden clasificar en dos técnicas: *ex-situ* e *in-situ* con base en el lugar donde se realiza la remediación (Ernst, 1991). Las primeras requieren la remoción del suelo contaminado, donde se realiza el tratamiento de recuperación. Las técnicas *in-situ* se efectúan directamente en el sitio contaminado sin realizar la excavación del suelo y tienen la ventaja de ser de bajo costo e impacto reducido al ambiente (Khan *et al.*, 2000). Se han ideado varias técnicas para realizar la remediación de suelos contaminados con EPTs, por ejemplo: la excavación y sanitarios el confinamiento, el lavado del suelo, los tratamientos térmicos y los eléctricos (Cunningham y Lee, 1995). Los tratamientos químicos incluyen la adición de fosfatos, sustancias altamente adsorbentes (zeolitas, amino silicatos, etc.), encalado y agentes quelantes (McGrath, 1998). Al respecto, en sitios contaminados con baterías de automóvil se han propuesto lavados del suelo con soluciones de agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (Nedwed y Clifford, 2000; Kim *et al.*, 2003) y ácido nitrilotriacético (Freitas y Nascimento, 2016) para extraer el Pb. En Estados Unidos se propusieron alternativas de remediación *in situ* (Trnovsky *et al.*, 1997). Los autores incluyeron: tratamiento de aguas subterráneas, la solidificación y lavado del suelo. Sin embargo, para la remediación de sitios contaminados con EPTs, estas alternativas tienen limitaciones económicas y pueden alterar de manera irreversible el suelo, el agua y los seres vivos (Cunningham y Lee, 1995). Por esta razón se han propuesto el uso de tecnologías limpias por medio de plantas, como la fitorremediación.

2.2.5 Fitorremediación

La fitorremediación tiene como principal objetivo reducir los riesgos de exposición a EPTs (González-Chávez *et al.*, 2004). Esta técnica se subdivide en varias fitotecnologías, de las cuales la fitoextracción y la fitoestabilización son los procesos más estudiados (Meier *et al.*, 2012). La fitoextracción se refiere al proceso tanto de traslocación como acumulación de estos contaminantes en la parte aérea de las plantas. Mientras, que la fitoestabilización consiste en la inmovilización de EPTs en el suelo a través de la acumulación o adsorción de los contaminantes, en las raíces o su precipitación en la rizósfera (Cunningham y Lee,

1995). Esta última tecnología incluye cualquier proceso biológico, químico o físico en las plantas, que ayude en la absorción y estabilización de los contaminantes en la rizósfera (Méndez y Maier, 2008). La fitoestabilización ha ganado especial atención debido a que representa una alternativa sustentable, estética, económica, y no es necesario el traslado de los contaminantes. Además, la cubierta vegetal reduce la erosión del suelo por el viento y el agua, y disminuye la lixiviación en comparación con el suelo sin vegetación. El éxito o fracaso de la fitoestabilización depende de la selección de la planta (McGrath, 1998), la fitotoxicidad de uno o más EPTs y las propiedades físico-químicas del suelo.

Existen pocos estudios sobre la fitorremediación de EPTs a nivel de campo e información limitada sobre su éxito (Clemente *et al*, 2012; Pardo *et al*, 2014; Li y Huang, 2015). Por ejemplo, en Estados Unidos, Pichtel *et al*. (2000) mencionaron el potencial de las plantas acumuladoras de Pb (*Taraxacum officinale* y *Ambrosia artemisiifolia*) para la fitoextracción de Pb en este suelo contaminado con residuos de baterías. Gil-Loaiza *et al*. (2016) reportaron el uso de la fitorremediación de un sitio contaminado con residuos de mina mediante plantas nativas. En cuanto al suelo contaminado con residuos de baterías, en Brasil, Freitas y Nascimento (2009) propusieron utilizar maíz y la aplicación de ácido nitrilotriácetico (como agente quelante) para la fitoextracción de Pb. Sin embargo, no se tienen registros sobre fitoestabilización de Pb en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil. El uso de plantas comestibles en fitorremediación constituye un factor de riesgo.

A pesar de las ventajas ofrecidas por la fitorremediación, existen factores que representan un obstáculo para el establecimiento y el desarrollo de las plantas como: la falta de nutrientes esenciales, el bajo contenido en materia orgánica; la toxicidad extrema debido a altas concentraciones de EPTs, el pH extremo y la salinidad etcétera (McGrath, 1998). Debido a esto se han propuesto estrategias para mejorar los procesos de fitorremediación como la fitoestabilización asistida con enmiendas o con microorganismos.

2.2.5.1 Fitorremediación asistida

La fitorremediación asistida con enmiendas (inorgánicas u orgánicas) es un procedimiento eficaz para reducir la biodisponibilidad de EPTs en el suelo contaminado. La aplicación de enmiendas orgánicas es requisito importante para el éxito del establecimiento, crecimiento y desarrollo de la vegetación en suelos con alta concentración de EPTs (Sunitha *et al.*, 2014). Las enmiendas pueden reducir la toxicidad de EPTs, mejorar la fertilidad del suelo, incrementar el contenido de materia orgánica (MO) y la actividad biológica, así como modificar el pH (Wong, 2003; Branzini y Zubillaga, 2010). Entre las enmiendas orgánicas que incrementan la fitoestabilización se encuentran: compost, vermicompost, aserrín, entre otras (Bryant *et al.*, 1992; Solís-Domínguez *et al.*, 2012; Sunitha *et al.*, 2014). Existen varios autores que reportan la aplicación de enmiendas orgánicas para catalizar la estabilización de EPTs procedentes de residuos de mina (Pardo *et al.*, 2014; Li y Huang, 2015; Gil-Loaiza *et al.*, 2016). Pero no se tienen registros de la aplicación de enmiendas orgánicas en el suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Otro factor crítico que determina la eficiencia de la fitorremediación es la aplicación de microorganismos en el suelo (o fitorremediación asistida por microorganismos). Principalmente, las bacterias y los hongos participan en la eficiencia de la fitorremediación de EPTs (Cunningham y Lee, 1995). Éstos son capaces de transformar, secuestrar y acumular EPTs en el suelo (Kidd *et al.*, 2009) y eventualmente afectar la disponibilidad, movilidad, sorción, acumulación y solubilización de contaminantes, como el Pb (González-Chávez *et al.*, 2005). Los microorganismos aumentan la producción de la biomasa y los nutrientes en las plantas y favorecen las características fisicoquímicas del suelo (Cunningham y Lee, 1995). Dichos efectos benéficos señalan que existen suficientes razones para investigar las interacciones que ocurren entre los EPTs, microorganismos, plantas y suelo. Sin embargo, independientemente del tipo de fitorremediación asistida (con enmiendas o microorganismos), las plantas deben ser altamente tolerantes a EPTs.

2.2.6 Mecanismos de tolerancia a EPTs

Algunas plantas son capaces de sobrevivir a concentraciones excesivas de EPTs; debido a que han desarrollado mecanismos de tolerancia bajo estas condiciones de contaminación.

Estos mecanismos se llevan a cabo por componentes inespecíficos y enzimáticos (Thirupathi *et al.*, 2011). Los primeros incluyen la síntesis de azúcares solubles totales, aminoácidos (prolina), compuestos fenólicos totales y cambios en la composición química de la pared celular, entre otros (Seregin e Ivanov, 2001). Mientras que los mecanismos enzimáticos incluyen: catalasas, peroxidadas y superóxido dismutasas (Sharma y Dubey, 2005). Además de las enzimas del ciclo ascorbato-glutati6n; ascorbato peroxidasa, monodehidroascorbato reductasa, dehidroascorbato reductasa y glutati6n reductasa (Seregin e Ivanov, 2001). Algunos de estos mecanismos de tolerancia se explican a continuaci6n.

2.2.6.1 Azúcares solubles totales

Los azúcares son compuestos orgánicos altamente solubles que se almacenan, sin ser tóxicos en altas concentraciones dentro de las células (Gomes *et al.*, 2010); entre sus funciones se reportan la estabilizaci6n de proteínas y membranas. Estas moléculas alivian los efectos de la toxicidad de EPTs dentro de la célula, porque actúan como: osmoprotectoras (Sharma y Dubey, 2005), agentes quelantes (Mehta y Gaur, 1999) e inhibidoras de la peroxidaci6n lipídica (Saradhi *et al.*, 1991). Pero, la disminuci6n o el incremento en la concentraci6n de los azúcares solubles en los tejidos de las plantas no se pueden generalizar. Por ejemplo, en la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris*) el contenido de azúcares solubles totales aumentó dos veces por la exposici6n durante cuatro semanas a 200 mg L⁻¹ de Pb (Aldoobie y Beltagi, 2013). También, en las plantas de chícharo (*Pisum sativum*) que crecieron en condiciones hidropónicas, el contenido de sacarosa incrementó de 10 a 20% después de siete días de exposici6n a 1 mM de Pb (Devi *et al.*, 2013). En contraste, en las plantas de arroz se observó la disminuci6n de los azúcares solubles totales por la presencia de 1 mM de Pb durante 104 días en condiciones hidropónicas (Chatterjee *et al.*, 2004).

2.2.6.2 Prolina

La prolina es un aminoácido que se encuentra en el tejido vegetal en cantidades muy pequeñas cuando la planta crece en un suelo no contaminado con EPTs. Sin embargo, esta molécula se acumula en el tejido vegetal por la respuesta al estrés por salinidad, déficit de humedad, temperaturas extremas y contaminaci6n por EPTs (Pourrut *et al.*, 2011). Este

aminoácido es responsable de la osmoregulación, la estabilización de la síntesis de proteínas, la regulación de la acidez citosólica y la eliminación de los radicales libres (Smirnoff y Cumbes, 1989). Además, la prolina activa las enzimas antioxidantes como sistema de protección en las células vegetales. Algunos autores mencionan que este aminoácido es importante en la tolerancia de Pb en las plantas (Sharman y Dubey, 2005; Mishra *et al.*, 2006). Por ejemplo, en la accesión K6 de cacahuete, la concentración de prolina incrementó de 12 a 60 $\mu\text{g g}^{-1}$ debido a la aplicación en el suelo de 800 mg kg^{-1} de Pb, la planta se mantuvo durante diez días bajo esta contaminación (Nareshkumar *et al.*, 2015). En condiciones hidropónicas, las semillas de *Potamogeton crispus* acumularon de 13 a 27 $\mu\text{g g}^{-1}$ de este aminoácido por la exposición durante 5 días a 25 mM de Pb (Qiao *et al.*, 2015). Existen algunas investigaciones que muestran lo contrario, en espinaca la concentración de prolina disminuyó de 100 a 60 $\mu\text{g g}^{-1}$ con la adición y mantenimiento de las plantas durante 25 días en solución hidropónica con 15 mM de Pb (Lamhamdi *et al.*, 2013). Sin embargo, no existen registros de la concentración de azúcares solubles totales solubles y prolina en las plantas que crecen en residuos de baterías de automóvil. Por lo que es necesario profundizar en el estudio de estos osmoprotectores.

2.2.6.3 Actividad de superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa

Otro de los mecanismos que utilizan las especies vegetales para tolerar la presencia de EPTs, es la activación de sistemas de defensa que elimina las especies reactivas de oxígeno (ERO). La producción celular de ERO se estimula por los desbalances metabólicos generados por condición de estrés, como la alta concentración de Pb (Pourrut *et al.*, 2011). La acumulación de ERO representa una amenaza celular, por lo que es esencial el estricto control en sus niveles para evitar su toxicidad (Mittler, 2002). Debido a esto, las plantas sintetizan las enzimas antioxidantes para disminuir los efectos tóxicos de las ERO, que se producen por EPTs. Además, estos antioxidantes cambian según la especie vegetal, las condiciones edafoclimáticas, así como la concentración, disponibilidad y tiempo de exposición a EPTs (Pourrut *et al.*, 2011), pues los efectos tóxicos varían en función de estos factores.

Entre las enzimas antioxidantes se encuentran la superóxido dismutasa (SOD) y la ascorbato peroxidasa (APX; Mourato *et al.*, 2012). La SOD se considera la primera defensa contra el estrés oxidativo (Mishra *et al.*, 2006). Esta enzima cataliza la dismutación (reacción en la cual un elemento es oxidado y reducido al mismo tiempo) del radical superóxido a H₂O₂ y O₂ (Islam *et al.*, 2008; Gupta *et al.*, 2010). El H₂O₂ es un oxidante muy fuerte y requiere la eliminación rápida de la célula para evitar la toxicidad oxidativa. La eliminación se logra por la acción de la enzima APX en el ciclo ascorbato-glutatión (Mishra *et al.*, 2006). Por ejemplo, en *Cassia angustifolia* (Qureshi *et al.*, 2007), *Vigna unguiculata* (Sadeghipour, 2016) y *Najas indica* (Singh *et al.*, 2010), la actividad de SOD y APX se incrementa por la presencia de Pb. Sin embargo, otros autores informaron disminución en la actividad de SOD en *Atriplex hortensis* y *A. rosea* (Kachout *et al.*, 2009) y *Eichhornia crassipes* (Malar *et al.*, 2014). También, se reportó la reducción de la actividad de la APX en *Phaseolus vulgaris* (Hassan y Mansoor, 2014) al aplicar Pb en condiciones hidropónicas. Por lo tanto, se necesitan investigaciones adicionales para proporcionar mayor comprensión acerca de la respuesta antioxidante de las especies vegetales que crecen en ambientes contaminados por EPTs, sobre todo en experimentos de campo. Además, aún no se tiene información sobre la actividad antioxidante de las enzimas SOD y APX en presencia de Pb en muchas especies vegetales como lo es *R. communis*.

2.2.6.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios cuya estructura está compuesta por al menos un anillo aromático (C₆) con uno o más grupos hidroxilos (-OH). Se sintetizan principalmente a partir del ácido cinámico que deriva a su vez de la fenilalanina (Michalak, 2006). Estos compuestos se acumulan generalmente en las células vegetales epidérmicas en los siguientes órganos: flores, hojas, tallos y raíces. Los derivados fenólicos en su forma glicosilada pueden almacenarse en estructuras subcelulares como apoplastos y vacuolas (Ferrerres *et al.*, 2011). La presencia de estrés, tanto abiótico como biótico, puede inducir la acumulación de compuestos fenólicos en las plantas, por ejemplo en *Silene vulgaris* (Roya y Fatemeh, 2013). En particular, los flavonoides y taninos se asocian al sistema de defensa de las plantas ante los EPTs (Michalak, 2006). Estos compuestos actúan como agentes antioxidantes, eliminan los radicales libres y quelan EPTs (Olivares, 2003). Sobrino *et al.*

(2010) reportaron que en la planta acuática *Lemna gibba*, en condiciones hidropónicas, la concentración de compuestos fenólicos totales aumentó 18% en presencia de 300 mg L⁻¹ de Pb. Así mismo, en trigo, en condiciones de invernadero, se observó el incremento de 0.03% a 0.12% de los compuestos fenólicos cuando se aplicaron 900 mg kg⁻¹ de Pb (Pazoki *et al.*, 2015). Pero no se tienen registros de los compuestos fenólicos en las plantas que crecen en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil. Por lo tanto, es necesario investigar la respuesta de estos compuestos en las plantas expuestas a dicha condición de contaminación durante periodos prolongados.

2.2.7 *Ricinus communis*

La planta *R. communis* (nombre común ricino) pertenece a la familia Euphorbiaceae. Esta oleaginosa es de interés no alimenticio. Las semillas de esta planta contienen más de 45% de aceite (Ogunniyi, 2006) constituido principalmente por el ácido ricinoleico (12-hidroxi-cis octadec-9-enoico ácido). Este aceite se utiliza para la fabricación de jabones, lubricantes, fluidos hidráulicos, pinturas, recubrimientos, plásticos, productos farmacéuticos, perfumes y biocombustibles (Goodarzi *et al.*, 2012). Esta planta tiene enorme potencial para utilizarse en la fitorremediación de EPTs (Ruíz-Olivares *et al.*, 2013). Estos autores demostraron que *R. communis* se comporta como planta excluyente de EPTs, es decir no los acumula en su parte aérea, inmoviliza los contaminantes estabilizados en la raíz. Además, sus semillas producen elevado porcentaje de aceite (entre 40% a 64%), sin que las propiedades del mismo se vean afectadas. Por lo que el aceite de ricino puede considerarse una fuente de materia prima para producir biodiesel, sin riesgos de toxicidad por EPTs (González-Chávez *et al.*, 2015). Los resultados de estos autores indicaron que el aceite de las semillas tiene mayor concentración de ácido linoleico que el aceite de las que crecen en suelo no contaminado, lo cual es deseable para la producción de biodiesel. Además, *R. communis* puede crecer en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (Gomes *et al.*, 2014; Schneider *et al.*, 2016). No obstante, la tolerancia a Pb puede variar dependiendo de la respuesta fisiológica y bioquímica de cada especie vegetal, de la concentración de EPTs, así como del tiempo de exposición al contaminante (Sharma y Dietz, 2009). En este sentido, poco se conoce de la respuesta bioquímica en las plantas de

ricino en estas condiciones de estrés. Por lo tanto, es necesario recurrir al estudio bioquímico para conocer los efectos tóxicos de Pb en *R. communis*.

2.2.7.1 Respuesta de parámetros bioquímicos a la contaminación por Pb en

Ricinus communis

En la actualidad, la respuesta bioquímica de *R. communis* en presencia de Pb se desconoce. Sin embargo, se ha reportado la respuesta de moléculas osmoprotectoras y enzimas antioxidantes bajo diversos tipos de estrés. Por ejemplo, la concentración de azúcares solubles totales incrementó de 14% a 42% bajo estrés hídrico (Karimi *et al.*, 2012) y disminuyó de 1.3 a 3 veces con el aumento de la temperatura ambiental (Ribeiro *et al.*, 2014). La prolina y los compuestos fenólicos aumentaron en las hojas de *R. communis* en condiciones de salinidad (Li *et al.*, 2010; Baudhdh y Singh, 2012) y en presencia de Cd (Baudhdh, y Singh, 2012; Hadi *et al.*, 2015). La actividad de SOD y APX aumentó con el estrés hídrico producido por el polietilenglicol (*in vitro*), pero disminuyó la concentración de proteína soluble total en dos genotipos de ricino (Silva *et al.*, 2016). En contraste, Janmohammadi *et al.* (2012) reportaron que la APX disminuyó al aplicar altas concentraciones de NaCl (200 mg L⁻¹) en la solución hidropónica y la actividad de SOD se incrementó en las plantas de ricino al aumentar esta sal. Estos estudios demuestran notoriamente que la respuesta de *R. communis* varía por diversas condiciones de estrés biótico y abiótico para mantener la homeostasis celular. Además, existen otros factores que afectan la producción de moléculas osmoprotectoras y enzimas antioxidantes como los microorganismos (Mittler, 2002). Entre estos microorganismos se encuentran los hongos micorrízico arbusculares (HMA) que pueden reducir el estrés oxidativo e incrementar la tolerancia a Pb en las plantas (Yang *et al.*, 2015).

2.2.8 Hongos micorrízico arbusculares (HMA) y fitorremediación

Los HMA (división Glomeromycota) tienen la capacidad de asociarse con las raíces de las plantas y formar una simbiosis llamada micorriza (Smith y Read, 2008). Estos hongos pueden facilitar la captación y la translocación del fósforo (P) y otros nutrientes presentes en el suelo, lo cual favorece la supervivencia y el desarrollo vegetal (Miransari, 2010). Los HMA se distribuyen ampliamente en todos los hábitats y climas terrestres. Además estos

hongos colonizan de 80% a 85% de las plantas, incluyendo los suelos contaminados con EPTs (Leyval *et al.*, 1997). Por ejemplo: Ruíz-Olivares *et al.* (2013) observaron que raíces de *R. communis* presentaron de 44 a 88% de colonización. En Brasil, Schneider *et al.* (2016) reportaron que *R. communis* presentó 25% de colonización micorrízica en las raíces de las plantas. Esta especie vegetal creció en un suelo contaminado con 3,456 mg kg⁻¹ de Pb total procedente de residuos de baterías de automóvil. Estos autores observaron 10 familias y 39 especies de HMA. De las cuales, los géneros predominantes fueron *Acaulospora* y *Glomus* en asociación con plantas herbáceas creciendo en este tipo de residuos. Sin embargo, no se tiene ningún reporte que mencione la participación de los HMA en la tolerancia a Pb de *R. communis* que crece en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Los HMA mejoran la tolerancia a EPTs en las plantas hospederas (Wu *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2013; Hasan *et al.*, 2013) y por lo tanto pueden tener el potencial para utilizarse en la fitorremediación (Zarei *et al.*, 2010; Tabrizi *et al.*, 2015; Bahraminiaa *et al.*, 2016). Los EPTs en el suelo pueden absorberse por la hifa fúngica y traslocarse a la planta. Sin embargo, no existe consenso de si los HMA favorecen o inhibe la absorción de EPTs. De esta manera, algunas plantas micorrizadas pueden incrementar la acumulación de los contaminantes en la parte aérea de las plantas (Bahraminiaa *et al.*, 2016). Mientras que en otros casos, los HMA contribuyen a la inmovilización de EPTs en el suelo (Chen *et al.*, 2005). Este proceso se realiza por la secreción de compuestos fúngicos, la formación de complejos, adsorción, interacción electrostática, quelación y precipitación de los contaminantes en la pared celular del hongo (Codignola *et al.*, 1989). En consecuencia, éste reduce el flujo de EPTs a la cadena alimenticia (Kaldorf *et al.*, 1999). Por ejemplo, González-Chávez y Carrillo-González (2013) observaron que *F. mosseae* BEG-25 puede actuar como barrera que previene la acumulación de Pb en las plantas. El resultado de la eficiencia en la fitorremediación de EPTs depende de la planta hospedera (Malcova, *et al.*, 2003), de los HMA (Lopes-Leal *et al.*, 1999) y de las características del suelo (Alloway, 1995).

Por otra parte, se sabe que los HMA reducen el daño oxidativo por EPTs en la planta (Hildebrandt *et al.*, 2007). Existe información sobre la respuesta bioquímica de las plantas colonizadas por los HMA ante la exposición del Pb. En este sentido, algunos estudios demuestran la capacidad de estos hongos para incrementar la producción de enzimas antioxidantes en las plantas, que alivian la situación de estrés por Pb (Porcel y Ruiz-Lozano, 2004; Yang *et al.*, 2015). También, los HMA incrementan el contenido de compuestos fenólicos en las raíces de las plantas micorrizadas (Khade y Adholeya, 2008) y en contaminación por Pb. Sin embargo, estos efectos dependen de un sistema complejo de la interacción hongo-planta-suelo. Por ello, se debe profundizar en el efecto de los HMA en las plantas, cuando crecen bajo condiciones de extrema contaminación, como son los residuos de baterías de automóvil.

2.3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Analizar la respuesta de crecimiento y bioquímica de *Ricinus communis* y hongos micorrízico arbusculares en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil para su posible uso en la fitorremediación.

Objetivos particulares

Estudiar la capacidad de cuatro cepas fúngicas para promover el crecimiento de *R. communis* en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Determinar la respuesta antioxidante de *R. communis* en asociación con hongos micorrízico arbusculares para disminuir el estrés de las plantas que crecen en un sitio contaminado.

Evaluar el potencial de los hongos micorrízico arbusculares en asociación con *R. communis* para la estabilización de Pb en el suelo.

Conocer el efecto de los hongos micorrízico arbusculares en asociación con *R. communis* sobre el porcentaje de aceite y contenido de ácidos grasos de las semillas de las plantas para su posible uso como materia prima.

HIPÓTESIS GENERAL

Funneliformis mosseae BEG-25 evitará el daño de la exposición a Pb en *Ricinus communis*.

Hipótesis particulares

Funneliformis mosseae BEG-25 incrementará la altura de las plantas de ricino en el sitio bajo estudio.

Funneliformis mosseae BEG-25 disminuirá los compuestos fenólicos en las hojas de *R. communis*.

Acaulospora sp. disminuirá la acumulación de Pb en la parte aérea de las plantas de ricino.

Funneliformis mosseae BEG-25 en asociación con *Ricinus communis* estabilizará al Pb en el sitio de estudio.

Funneliformis mosseae BEG-25 incrementará el porcentaje de ácido linoleico en el aceite de ricino.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Sitio de estudio

El estudio se realizó en San Andrés de las Peras, municipio de Tepetlaoxtoc, al noreste del Estado de México. En esta localidad se encuentra un sitio contaminado con residuos del reciclaje de baterías de automóvil (Figura 2.1). El terreno colinda al norte con Acolman, al sur con Papalotla y Texcoco; al este con Tlaxcala y Puebla y al oeste con Chiautla. El área experimental fue de 400 m². El clima del sitio es templado subhúmedo con temperatura media anual de 17 °C y con precipitación media anual de 687 mm (INEGI, 2013).

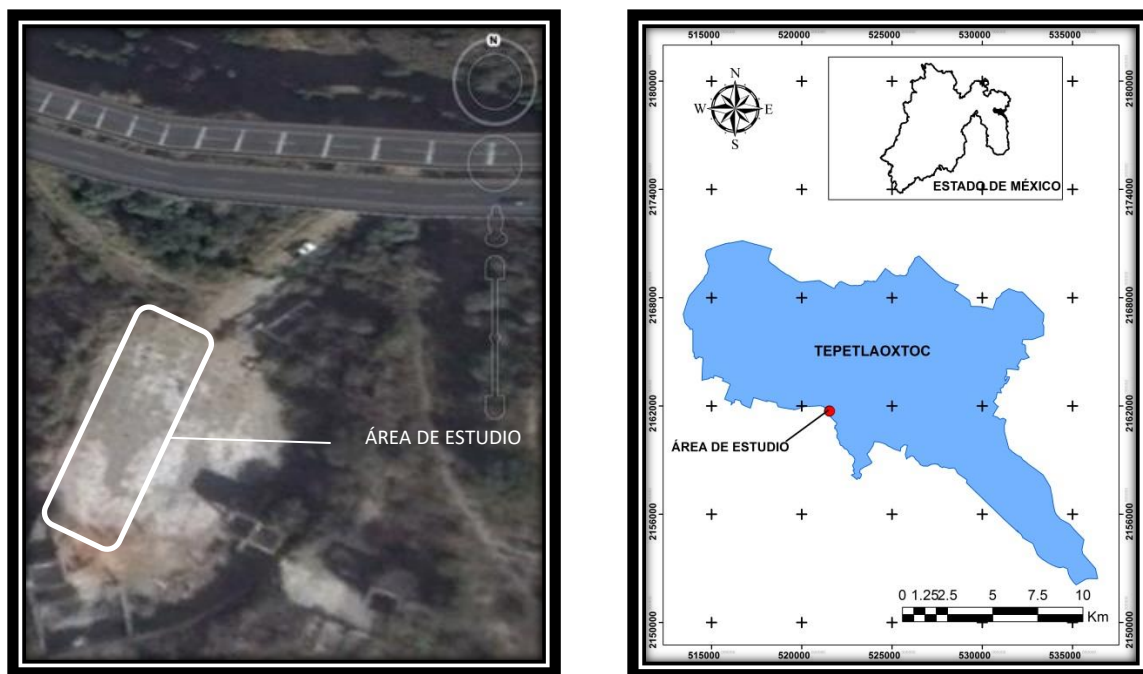


Figura 2.1 Fotografía (izquierda) y ubicación (derecha) del área de estudio en el municipio de Tepetlaoxtoc, Estado de México.

2.4.2 Caracterización inicial del sitio

Se realizó una caracterización química inicial del suelo antes de cualquier manejo agronómico. El muestreo se realizó en forma sistemática, las muestras se tomaron en las intersecciones de los cuadrantes establecidos. Cada cuadrante fue de 5 x 5 m. Se tomaron 21 muestras de 0 a 20 cm de profundidad. Las muestras de suelo se secaron al aire, a la sombra y se cribaron en una malla de 2 mm. El suelo se caracterizó químicamente: el pH (Rowell, 1994), la conductividad eléctrica (CE; Rhoades, 1996) y el porcentaje de materia orgánica (MO; Dean, 1974). También, se determinó la concentración total (EPA, 1994), extractable con DTPA (Lindsay y Norvel, 1978) y solubles en agua de EPTs (NOM-021), así como, la concentración de sales solubles (Na y K por flamometría, así como SO₄ por turbidimetría). Todas las propiedades se analizaron por triplicado.

2.4.2.1 pH y conductividad eléctrica (CE)

El suelo se pesó (10 g) en tubos de plástico. A cada muestra se adicionó 20 mL de agua destilada y se agitó durante 30 min a 120 opm (oscilaciones por minuto). En la suspensión se tomó la lectura de pH con el potenciómetro Orion Research, modelo 601 (Rowell, 1994).

Posteriormente, los tubos se dejaron en reposo durante 24 h y se tomaron las lecturas en el sobrenadante con el puente de conductividad Conductronic CL35 (Rhoades, 1996).

2.4.2.2 Concentración total de EPTs en el suelo

El suelo (0.250 g) se colocó en tubos de politetrafluoroetileno (PTFE) y se añadió 6 mL de ácido nítrico (HNO_3). Las muestras se pre-digirieron por 8 h a temperatura ambiente. Posteriormente, los tubos se introdujeron en el horno de microondas (3000 Anton Par) y se calentaron a 180 °C (1200 W) a 20 bar durante 30 min. El extracto se aforó con agua desionizada a 25 mL, se filtró en papel Whatman No. 42 a botella de plástico de 100 mL para después hacer las lecturas de EPTs en el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer, 3110 (EPA, 1994).

2.4.2.3 Concentración extractable de EPTs en el suelo

Para determinar los elementos extractables (Cd, Cu, Fe, Ni, Mn, Pb y Zn), el suelo se pesó (4 g) en tubos de plástico (de 50 mL) y se agregaron 40 mL de la solución compuesta de DTPA (0.005 M), CaCl_2 (0.01 M) y TEA (0.1 M). El pH de la solución se ajustó previamente a 7.3 con HCl 6 N (Lindsay y Norvel, 1978). Los tubos se agitaron durante 2 h a 120 oscilaciones por minuto (opm) y se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Después, las muestras se filtraron con papel Whatman No. 42 y los sobrenadantes se conservaron en refrigeración en botellas de plástico para su posterior lectura por espectrometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 3110).

2.4.2.4 Concentración soluble de EPTs en el suelo

Las muestras se pesaron (10 g) en tubos de plástico. A éstas se agregaron 40 mL de agua desionizada. Los tubos se agitaron a 120 opm durante 16 h y se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Después, las muestras se filtraron con papel Whatman No. 42 y se acidificaron ($\text{pH} < 2$) con una gota de HCl concentrado. A partir de esta solución, se cuantificaron los EPTs solubles en agua (Pb, Cu y Fe) por medio de un espectrómetro de absorción atómica (Perkin-Elmer 3110).

2.4.2.5 Materia orgánica

El porcentaje de materia orgánica (MO) se determinó por incineración (Dean, 1974). Se pesaron 2 g de muestra en crisoles previamente secados a 105 °C durante 2 h y enfriados por 3 h en un desecador. Posteriormente, las muestras se calentaron a 450 °C durante 4 h en una mufla (SIBRON, Thermodyne) y se dejaron enfriar durante 8 h. Trascorrido este tiempo, los crisoles se colocaron en el desecador durante 3 h y se pesó la ceniza resultante. Estos datos permiten calcular el porcentaje de MO por gravimetría. La ventaja de este procedimiento es su costo y que a interferencias derivadas debido a los metales se reducen.

2.4.2.6 Determinación de Na, K y sulfatos solubles

Las muestras se pesaron (10 g) en tubos de plástico. A éstas se agregaron 40 mL de agua desionizada. Los tubos se agitaron a 120 opm durante 16 h y se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Después, las muestras se filtraron con papel Whatman No. 42 y se acidificaron ($\text{pH} < 2$) con una gota de HCl concentrado. A partir de esta solución se determinaron las sales solubles (Na, K y SO_4). La concentración de Na y K se leyó (directamente o por dilución) por medio de un flamómetro. La cuantificación de sulfatos se realizó por turbidimetría (EPA, 1986) en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary Varian 50). Las muestras se leyeron a 420 nm.

2.4.3 Establecimiento del experimento en campo

Después remover residuos sólidos y piedras abandonados en el sitio, con un trascavo niveló el área, se hizo un muestreo sistemático inicial. Se midió el área y se trazó al arreglo de los tratamientos. El diseño se enfocó para analizar el efecto de la inoculación con hongos micorrízico arbusculares en plantas de *Ricinus communis*.

2.4.3.1. Producción del inóculo micorrízico

Los inóculos micorrízicos se obtuvieron de la colección de cepas del laboratorio de Microbiología Ambiental del Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo. Las cepas que se utilizaron en este estudio fueron: *Acaulospora* sp. (ACA), *Glomus* sp. (GTX), *Funneliformis mosseae* BEG-25 (anteriormente, *Glomus mosseae*) (BEG) y *Gigaspora gigantea* (GIG). Solo las dos primeras cepas procedieron de sitios contaminados con EPTs

(Zimapán Hgo. y Taxco Gro., respectivamente). Los inóculos se propagaron en sorgo como planta hospedera (*Sorghum vulgare*) y arena de sílice estéril. Las plantas se regaron cada tercer día con solución nutritiva Hoagland baja en fósforo (20 µL; Millner y Kitt, 1992; Anexo 1). El periodo de propagación del inóculo fue de noviembre de 2013 a julio de 2014. Después de ese tiempo, las macetas se dejaron de regar para incrementar la esporulación de los hongos.

2.4.3.2 Evaluación de la calidad del inóculo micorrízico

Se tomó 50 g de los diferentes inóculos y se cuantificó el número de esporas por peso seco de arena (Gerdemann y Nicolson, 1963). Además, se realizó la tinción de las raíces de sorgo mediante la técnica propuesta por Phillips y Hayman (1970). Las cuales se obtuvieron mediante el tamizado de la arena de sílice. Éstas se colocaron en tubos de ensayo, donde se les adicionó KOH a 10% para clarear las raíces. Después, las raíces se lavaron con agua de la llave (12 h) y se les adicionó H₂O₂ a 3%, para su clareo. Nuevamente éstas se lavaron con agua de la llave y se les adicionó HCl a 10% por una hora, luego se decantó y se les agregó azul de tripano (0.05%) durante 12 h. Las raíces se colocaron en portaobjetos y se cuantificó el porcentaje de colonización micorrízica mediante la presencia-ausencia de arbusculos, micelio y vesículas en las raíces (Giovannetti y Mosse, 1980). Esta variable se calculó dividiendo el número total de segmentos colonizados entre el número de segmentos totales observados y el resultado se multiplicó por cien para expresarlo en porcentaje de colonización.

2.4.3.3 Preparación de semillas de ricino

Las semillas de *R. communis* SF7 fueron proporcionadas por el banco de germoplasma del laboratorio de Microbiología Ambiental del CP, Campus Montecillo. Esta accesión se encontró en forma nativa en residuos de mina del sitio San Francisco 7, ubicada en Zimapán, Hgo (Ruíz-Olivares *et al.*, 2013). Las semillas anteriormente mencionadas correspondieron a la primera generación de esta accesión, las cuales crecieron sin contaminación en el campo experimental del Colegio de Postgraduados. Estas semillas se lavaron con agua destilada y se sembraron en bolsas de plástico (30 x 15 cm) con 2 kg de arena de cuarzo.

2.4.3.4 Inoculación de semillas de ricino con HMA

Las semillas de ricino se inocularon en forma independiente con 300 g de los diferentes inóculos de los HMA (*Acaulospora* sp., *Glomus* sp., *F. mosseae* BEG-25 y *Gi. Gigantea*). El inóculo consistió en arena con esporas y raíz con colonización de los diferentes hongos. El cual presentó 98 esporas por 100 g de suelo y 60% de colonización micorrízica. Las plántulas se regaron cada tercer día con 100 mL de solución nutritiva Hoagland, baja en fósforo (20 μ M; Anexo 1) y se mantuvieron en condiciones de invernadero durante tres semanas.

2.4.3.5 Preparación del terreno para la siembra de *Ricinus communis*

Para favorecer el establecimiento de las plantas se acondicionó el terreno, por lo que se niveló con ayuda de un tractor. En este trabajo no se utilizó el pase de arado o de rastra. Al momento de la siembra se excavó el suelo (40 x 40 x 40 cm) y se colocó la enmienda (sistema de cajete). La cual consistió en la mezcla de suelo, aserrín y vermicompost, en proporción 1:1:1 (3 kg) para favorecer la estabilización de EPTs presentes en el sitio contaminado, inmediatamente se realizó el trasplante.

2.4.3.6 Trasplante

Después de que las plántulas de ricino se mantuvieron en condiciones de invernadero (tres semanas), se seleccionó una plántula con características semejantes (tamaño, color y número de hojas) para cada unidad experimental. El ricino se trasplantó a condiciones de campo en el sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil (julio, 2014). Cada plántula se sembró a 2.5 m de distancia y se regó con 2 L de agua de la llave (cada 15 días) durante el periodo de primavera 2015.

2.4.4 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar para el experimento en campo. Los cinco tratamientos en este estudio fueron: *Acaulospora* sp. (ACA), *Gi. gigantea* (GIG), *Glomus* sp. (GTX), *F. mosseae* BEG-25 (BEG) y sin inocular (TES). Tanto *Acaulospora* sp. (ACA) como *Glomus* sp. (GTX) fueron aislados de sitios contaminados (Zimapán, Hgo. y Taxco,

Gro. respectivamente). Cada tratamiento tuvo siete repeticiones en total, 35 unidades experimentales. Se realizaron tres muestreos según la edad de la planta (5, 10 y 15 meses después de establecerlas en campo).

En el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SAS V9.0 (PROC MIXED). Para comparar las curvas de comportamiento de los tratamientos fúngicos con respecto al tiempo ($\alpha=0.05$) se realizó el análisis longitudinal (cuya definición se encuentra en el Anexo 2) con el ajuste de Bonferroni. Sin embargo, en el caso de las variables solo se analizaron al final del experimento (15 meses), se evaluaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) en el programa estadístico SAS V9.0. Además, se hicieron las correlaciones de Pearson ($\alpha=0.05$) para relacionar variables. La estadística multivariada se realizó a través de los análisis de componentes principales (PCA) y conglomerados (CLUSTER) en el programa estadístico SAS V9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

2.4.5 Evaluación del experimento en campo

2.4.5.1 Cinética de crecimiento de las plantas de ricino

Cada mes se evaluó el crecimiento y la sobrevivencia de las plantas. Se consideraron las siguientes variables de crecimiento: altura (cm; las mediciones se tomaron a partir del primer nudo del tallo hasta la hoja más joven con una cinta métrica), número de hojas, diámetro del tallo (cm; se determinó a partir de 3 cm del suelo con un vernier) y número de nudos.

2.4.5.2 Análisis químico del suelo rizosférico

Se hicieron tres muestreos (5, 10 y 15 meses de edad de las plantas). Los cuales consistieron en una mezcla compuesta de dos submuestras, a 5 cm de profundidad, por cada rizósfera de las plantas de ricino (35 muestras). Las muestras se procesaron como se describió para la caracterización inicial del sitio. Se siguieron las mismas metodologías descritas anteriormente (Sección 2.4.2).

2.4.5.3 Agro-productividad de las plantas

Al año y medio posterior a la siembra, se determinaron las variables de agro-productividad: precocidad, altura, número de nudos, número de hojas, número de racimos por planta, longitud del primer racimo (m), peso de cápsula por racimo (g), rendimiento de las semillas (g) y el peso de 100 semillas (g). El contenido de aceite de ricino (%) se realizó con el extractor de grasas y aceites Soxhlet con hexano (100 mL) como lo describe Ruíz-Olivares *et al.* (2013).

2.4.5.3.1 Perfil de análisis de ácidos grasos

El aceite de ricino se saponificó, hidrolizó y metiló utilizando éter etílico, KOH y disolventes (metanol, hexano y etanol) de calidad analítica HPLC (Merk). Los ésteres metílicos resultantes se analizaron mediante cromatografía de gas-líquido con detector de ionización de flama, CG-FID (Perkin Elmer Auto System). Se empleó una columna polar HP-INNOWax de 30 m x 0,32 mm (DI) x 0,50 μm de espesor de película. Se utilizó un detector de temperatura a 300 °C y 260 °C de temperatura de inyección con el siguiente programa de 150 °C durante 4 min, aumentando 5 °C min^{-1} , hasta 250 °C durante 12 min. El volumen de inyección de la muestra fue de 2 μL utilizando nitrógeno en la fase móvil (1 mL min^{-1}). La identificación y cuantificación de los ácidos grasos (AG) metilados se realizó a través de estándares comerciales (esteárico, palmítico, oleico, linoleico y ricinoleico) de Sigma (No. Cat. 189-19) y se calculó el porcentaje individual de cada componente identificado.

2.4.5.4 Concentración de EPTs, calcio y fósforo en la parte aérea de las plantas

El muestreo del material vegetal se realizó a los 5, 10 y 15 meses después del trasplante de *R. communis*. En los primeros 5 meses se tomaron muestras de dos o tres hojas grandes del cuarto nudo), a los 10 meses se tomaron muestras de hojas del sexto nudo y a los 15 meses tomaron muestras de hojas del octavo nudo. Las hojas se lavaron con agua potable, después con jabón extran a 2% durante 5 min, seguido de ácido clorhídrico (10%) durante 10 min. Posteriormente, éstas se enjuagaron con agua destilada y agua desionizada. Las muestras se colocaron en bolsas de papel de estraza para su secado en la estufa a 65 °C por 72 h.

Posteriormente, el material se maceró en un mortero para homogeneizarlas y llevar a cabo el análisis correspondiente.

En tubos de PTFE se pesaron 0.25 g del macerado de hojas de ricino y se añadió 4 mL de ácido nítrico (HNO₃). Los tubos se introdujeron en el horno de microondas y se calentaron a 180°C (1200 W) durante 30 min (USEPA, 1994; método 3051). Después de la digestión, el extracto se aforó a 25 mL y se filtró con papel Whatman No. 42, el sobrenadante se colocó en botellas de plástico (100 mL). Después, se realizó la cuantificación de EPTs y Ca en el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer, 3110. La concentración P se determinó por el procedimiento de Kitson y Mellon, 1944). Para cada muestra se realizaron tres repeticiones. El factor de acumulación (FA) se calculó dividiendo la concentración de Pb en la parte aérea entre la concentración extractable con DTPA de Pb (Shi y Cai, 2009). Además, se evaluó la concentración de EPTs en la torta (semilla sin aceite) y en el aceite de ricino siguiendo la metodología de Ruíz-Olivares *et al.* (2013).

2.4.5.5. Toma de muestra para el análisis de estrés oxidativo de las plantas de ricino

Se realizaron tres muestreos del material vegetal en 35 plantas (cinco tratamientos), los cuales consistieron en la hoja del cuarto, sexto y octavo nudo (a los 5, 10 y 15 meses de edad, respectivamente). Cada muestra se lavó con agua destilada y se envolvió en papel aluminio en contacto con hielo. Posteriormente, las hojas se conservaron a -80 °C para después llevar a cabo los análisis de estrés oxidativo. El cual incluyó la cuantificación de los azúcares solubles totales, prolina y compuestos fenólicos totales, así como la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APX). Previo al análisis de cuantificación, en cada muestra se determinó el contenido de humedad para expresar la concentración de los compuestos y actividad de las enzimas con base en la materia seca (ms).

2.4.5.5.1 Solutos osmoprotectores en las hojas

2.4.5.5.1.1 Azúcares solubles totales

Las hojas se pesaron en fresco (0.5 g) y se agregaron tres mL de alcohol etílico a 80%. Las muestras se colocaron en baño María a 80 °C durante 10 min. Al pasar este tiempo se retiró el sobrenadante, nuevamente se agregó alcohol etílico (3 mL) y se repitió este proceso cuatro veces. Posteriormente, los extractos se colocaron en estufa de aire forzado a 60 °C hasta secarlo (24 h), enseguida, se re-suspendieron con la adición de 1 mL de agua destilada. La medición de azúcares solubles totales se realizó de acuerdo al método de Montreuil *et al.* (1997). La mezcla de reacción estuvo compuesta por: 300 µL de extracto, 300 µL agua destilada y 3 mL de antrona (2 mg L⁻¹). Las muestras se agitaron (180 rpm durante 5 min) en baño de hielo. Inmediatamente se colocó en baño María a ebullición por 10 min, después se dejaron a temperatura ambiente por 5 min. Finalmente, se tomaron las lecturas a 625 nm correspondientes en un espectrofotómetro UV/VIS (Evolution 300, Thermo). Se utilizó glucosa como estándar para la curva de calibración en un intervalo de concentración de 0-250 µg mL⁻¹. Para cada muestra se realizaron seis repeticiones, las unidades se reportan en g de azúcares solubles totales por 100 g de materia seca.

2.4.5.5.1.2 Concentración de prolina en hojas

La determinación de prolina se analizó siguiendo el método propuesto por Bates (1973). Se pesó 0.1 g de hojas de ricino (tejido fresco) y homogeneizó en frío con 2.5 mL de ácido sulfosalicílico a 4 °C. El homogenizado se centrifugó a 14,000 rpm a 4°C durante 5 min y el sobrenadante resultante se utilizó para la determinación de la concentración de prolina. La cuantificación de este aminoácido se realizó con la mezcla de reacción compuesta por: 2 mL de extracto, 3 mL de agua desionizada, 2.5 mL de reactivo de ninhidrina (6.25 g en 100 mL de ácido fosfórico 6 M y 150 mL de ácido acético glacial) y 2.5 mL de ácido acético glacial. Cada muestra se incubó en baño María a 100 °C durante 1 h. Los tubos se enfriaron con hielo y se les añadió 5 mL de tolueno. Cada tubo se mezcló vigorosamente durante 1 min y se dejó en reposo durante 15 min. Después, la parte superior de la mezcla se transfirió a una celda de cuarzo y se tomó la lectura en un espectrofotómetro UV/VIS (Evolution 300, Thermo) a 520 nm. Para cada muestra se realizaron tres repeticiones, las unidades se reportan en ng de prolina por g de materia seca.

2.4.5.5.2 Actividad enzimática en las hojas

2.4.5.5.2.1 Actividad de la enzima superóxido dismutasa

(SOD)

La determinación de la actividad de la SOD se realizó mediante la capacidad de inhibir la reducción fotoquímica del azul de nitrotetrazolio (NBT). Se realizó mediante la modificación del método descrito por Dhindsa *et al.* (1981). Se homogeneizó 0.1 g de hoja fresca, que previamente se maceró en nitrógeno líquido con 2 mL de amortiguador de fosfato de potasio 50 mM (pH 7.5) con EDTA 1 mM y 2% de polivinilpirrolidona (PVP). El homogenizado se centrifugó a 12,000 rpm por 20 min a 4°C. En placas de 96 multipozos se colocaron 50 µL del extracto antes mencionado, se le agregó 280 µL del amortiguador de reacción y 27 µL de riboflavina (2 µM). El amortiguador de reacción consistió de amortiguador de fosfato de sodio 50 mM pH 7.8, metionina 13 mM, NBT 75 µM y EDTA 0.1 mM. La placa se expuso a la luz blanca (lámpara de 30 W) a 30 cm de distancia durante 30 min, cada minuto se tomó la lectura de la absorbancia a 560 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (Evolution 300, Thermo). Una unidad de SOD fue igual a la cantidad de sobrenadante que fotoinhibe 50% de la formación de NBT (Giannopolities y Ries 1977) por g de materia seca.

2.4.5.5.2.2 Actividad de la enzima ascorbato peroxidasa

(APX)

Para la determinación de la actividad de la APX se utilizó el método de Jiménez *et al.* (1997) basado en la medida de la oxidación del ascorbato en presencia del H₂O₂. El extracto enzimático se realizó con 0.1 g de hoja fresca y se maceró con nitrógeno líquido. Posteriormente, se adicionó 2 mL de amortiguador de extracción que incluyó: ácido ascórbico (5 mM), EDTA (1 mM) y polivinil polipirrolidona (2%; PVPP). Después, el extracto enzimático se centrifugó (14,000 rpm durante 15 min) y el sobrenadante se conservó a -80°C hasta su posterior lectura. La reacción del ensayo se efectuó en placas de 96 pozos a temperatura ambiente con un volumen de reacción de 360 µL. Éste contenía 275 µL de amortiguador de reacción, 50 µL del extracto enzimático y 35 µL de H₂O₂ (3%). El amortiguador de reacción consistió en amortiguador de potasio (50 mM pH 7), EDTA (0.01 mM), ascorbato (0.5 mM). La reacción se inició con la adición de H₂O₂ y se cuantificó el

descenso de la absorbancia a 290 nm con un espectrofotómetro multiplaca UV/VIS (Thermo scientific, Varioskan flash) durante 3 min. La actividad enzimática, expresada en U (es la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato por minuto) de enzima por mg^{-1} de materia seca, se calculó aplicando un coeficiente de extinción molar para el ácido ascórbico de $\epsilon_{290}=5.42 \cdot 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Mientras que la concentración de Proteína soluble fue determinada por el método Bradford (Bradford, 1976).

2.4.5.5.3 Concentración de compuestos fenólicos totales en hojas

Se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) y se expresó como equivalentes de ácido gálico. El extracto se realizó con 50 mg de hoja fresca y se adicionó 1.5 mL de etanol al 95%. Una alícuota de extracto etanólico (50 μL) se mezcló con 450 μL de agua destilada y 250 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu al 50% y se dejó reposar durante 8 min. Posteriormente, se añadieron 1.25 mL de carbonato sódico (5%) y se agregó 2.3 mL de agua desionizada y se dejó nuevamente en reposo durante 30 min. Inmediatamente se determinó la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro (UV/VIS; Evolution 300, Thermo). Se obtuvo una curva estándar ($y = 1.925x + 0.0068$; $r^2=0.99$) con ácido gálico (Sigma-Aldrich) como referencia se utilizó ácido gálico al 98% (Sigma-Aldrich; No. Cat. G7384). El contenido de compuestos fenólicos totales se expresó en porcentaje de ácido gálico por g de masa fresca.

2.4.5.5.4 Concentración de clorofila

En un mortero frío, se trituró 0.02 mg de hoja fresca, con 2 mL de acetona fría a 80%, con 0.1 g de MgCl_2 y arena de mar purificada. Posteriormente, la mezcla se centrifugó durante 5 min a 12,000 rpm (a 5 °C). El sobrenadante se aforó a 2 mL con acetona a 80%. La absorbancia se determinó a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro (UV/VIS; Evolution 300, Thermo) para calcular las concentraciones de clorofila a (Cl a), clorofila b (Cl b) y clorofila total. Éstas se determinaron en mg g^{-1} de materia seca, de acuerdo a las ecuaciones propuestas por Lichtenthaler y Wellburn (1983).

2.4.5.6. Frecuencia de colonización micorrízica en raíces de ricino

El muestreo de la raíz de ricino se realizó a 5, 10 y 15 meses de edad de las plantas. Las raíces se lavaron con agua de la llave para realizar su tinción (Phillips y Hayman, 1970; detallada anteriormente en la sección 2.4.3.2) y se cuantificó el porcentaje de colonización micorrízica mediante la técnica descrita por Giovannetti y Mosse (1980).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Caracterización química inicial del suelo

Las propiedades químicas del suelo fueron altamente heterogéneas antes de establecer el experimento, lo cual podría deberse a las perturbaciones causadas por la intervención humana en el pasado (Freitas *et al.*, 2013). Aparentemente la suspensión de las baterías se vertía en forma desordenada en la superficie del suelo y únicamente se reciclaba el plomo y la carcasa. El Cuadro 2.3 muestra los resultados de la caracterización inicial del suelo bajo estudio antes de la aplicación de la enmienda orgánica y el aserrín así como antes del trasplante de *R. communis*. Los resultados se expresaron como promedio y se incluyen los valores máximos y mínimos. El pH promedio del suelo fue alcalino (8 ± 0.1) con intervalos fuertemente alcalinos (>8.3) en 29% de los datos y valores máximos hasta de 10. La CE fue alta (4 ± 5 dS m^{-1}), 33% de los puntos muestreados tuvieron valores mayores de 4 dS m^{-1} . Por lo tanto, se consideran salinos pues se encontraron dentro del intervalo de 4 a 15 dS m^{-1} . La alta CE del suelo representa un factor que puede afectar negativamente la vegetación y las poblaciones microbianas (Churchman *et al.*, 1993).

La concentración de MO en este sitio fue $<1.2\%$, por lo que se considera pobre (Fassbender y Bornemisza, 1987). Esta característica química puede limitar el establecimiento y el desarrollo de las plantas y disminuir los nutrientes disponibles en el suelo. La MO es la fase sólida de más influencia en el proceso de adsorción del Pb en el suelo y permite mantenerlo inmóvil (Kabata-Pendias, 1992). Sin embargo, la estabilidad del proceso de adsorción del Pb en la MO está determinada por el pH, la fuerza iónica y la concentración de Pb (Manceau *et al.*, 1996). Otros estudios reportan que el Pb también se asocia a minerales de arcilla, óxidos de Fe-Mn, hidróxidos de Fe-Al, además de la MO (Sauve *et al.*, 2000).

Cuadro 2.3. Características químicas iniciales del suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Variable	Valores			Clasificación y límites
	Promedio	Mínimo	Máximo	
pH	8±1	7	10	Alcalino †
CE (dS m ⁻¹)	4±5	0	13	Suelo salino ¶¶
MO (%)	0.7±0.3	0.1	1.3	Pobre §
Concentración total de EPTs (mg kg ⁻¹)				
Pb	41,893±42,556	303	122,404	≤800 (uso en suelo industrial) Þ
Cu	798±900	24	3,044	≤1,000 (uso en suelo industrial) ¨
Zn	195±164	31	574	≤3,000 (uso en suelo industrial) ¨
Fe	12,442±11,765	1646	49,288	≤350,000 (normal en suelo) ¨
Mn	419±242	178	856	≤3,000 (normal en suelo) ¨
Ni	87±63	22	208	≤750 (uso en suelo industrial) ¨
Cd	7±3	2	13	≤30 (uso en suelo industrial) ¨
Concentración extractable de EPTs con DTPA (mg kg ⁻¹)				
Pb	6,246± 4,213	153	12,000	≥300 (nivel alto en suelo) ††
Cu	45±60	1	231	≥2.5 (nivel alto en suelo) ¶¶¶
Zn	5±3	1	14	≥8.0 (nivel alto en suelo) ¶¶¶
Fe	5±3	1	11	≥4.5 (nivel normal en suelo) ††
Mn	3±4	0	11	≥50 (nivel alto en suelo) ¶¶¶
Ni	2±1	0	5	≥100 (nivel normal en suelo) ††
Cd	0±0	0	1	≥5 (nivel alto en suelo) ††
Concentración soluble de EPTs ^a y sales en agua (mg kg ⁻¹)				
Pb	18±20	0	68	≥0.5 (nivel alto en suelo) Þ
Cu	1±4	0	18	≥2 (nivel alto en agua) §§
Fe	4±7	0	29	≥1 (nivel alto en agua) §§
K	59±28	17	127	≥ 100(nivel alto en suelo) ÞÞ
Na	3,951±6,006	56	22,060	≥200 (nivel alto en agua) §§
SO ₂	643±700	24	2859	≥200 (nivel alto en agua) §§

Se presentan valores promedio y desviación estándar para cada promedio se consideró n= 21. MO: Materia orgánica. ^aLa concentración soluble en agua de Cd, Zn, Mn y Ni no se reportó debido a que las concentraciones estuvieron por debajo de los límites de detección. †Jones y Wolf (1984); ¶Brady y Weil (2008); §Fassbender y Bornemisza (1987); ÞNOM-147; ¨Aguilar *et al.* (1999); ††NOM-02; ¶¶¶Ankerman y Large (1978); §§WHO (1997); ÞÞ Knudsen *et al.* (1982).

La concentración total promedio de Pb fue de 41,893 mg kg⁻¹, con datos máximos de 122,404 mg kg⁻¹ y mínimos de 303 mg kg⁻¹. Por lo tanto, esta concentración promedio

excedió 52 veces a los valores establecidos por la NOM-147 para uso industrial de suelo. Otros trabajos han reportado mayor concentración total de Pb procedente de sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil en comparación con el promedio en el presente estudio (Nedwed y Clifford, 2000; Ogundiran y Osibajo, 2009). Por ejemplo, en Estados Unidos, Pichtel *et al.* (2000) mencionaron concentraciones de Pb entre 1,700 y 140,500 mg kg⁻¹ en un suelo contaminado con este tipo de residuos.

La concentración total de Cu fue alta (798 mg kg⁻¹; Cuadro 2.3) y excedió los valores normales de un suelo no contaminado (100 mg kg⁻¹; Lindsay, 1979). La contaminación por Cu puede deberse a las diferentes fuentes de este elemento que se encuentran en las baterías de automóviles, tales como separadores, terminales y chips (Royer *et al.*, 1992). Otros trabajos, en sitios de reciclaje de baterías acidas de automóvil, han reportado además de excesiva concentración total de Pb, también alta concentración de Cu (Trnovsky *et al.*, 1997; Coya *et al.*, 2000). Es necesario mencionar que en las normas mexicanas no se describen los límites máximos permitidos para Cu, Fe, Mn y Zn. Los cuales son nutrientes esenciales a bajas concentraciones, pero tóxicos en concentraciones altas en el suelo (Kabata-Pendias, 1992). En este estudio solo estos dos contaminantes (Pb y Cu) se encontraron en concentraciones altas.

La concentración extractable con DTPA y soluble en agua de Pb fue alta, en promedio de 6,246 y 18 mg kg⁻¹, respectivamente. Estos valores fueron mayores (21 y 36 veces) que los intervalos establecidos por la NOM-147 en suelo para uso agrícola. La concentración extractable de Pb fue menor que la que mencionó Gomes *et al.* (2014); quienes reportaron 1,811 mg kg⁻¹ en un sitio contaminado con este tipo de residuos. Pichtel *et al.* (2000) observaron que la concentración soluble de Pb fue mayor (118 mg kg⁻¹) en un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil en Estados Unidos, en comparación con los valores en el presente estudio. Ogundiran y Osibanjo (2009) reportaron contaminación por Pb, cuya concentración extractable con MnCl₂ y soluble fue alta (8,870 y 133 mg kg⁻¹; respectivamente) en suelo contaminado con residuos de automóvil. Las excesivas concentraciones de Pb observadas en el presente estudio representan riesgo ambiental y para los seres vivos, causado por el incorrecto control de los residuos, provenientes del

reciclaje de baterías de automóvil. Además, los valores que se obtuvieron demuestran que la empresa anónima que operó en el sitio de estudio incumplía completamente con las normas mexicanas para suelo de uso industrial.

La concentración extractable de Cu fue mayor (45 mg kg^{-1}) que los valores establecidos por la NOM-021 (0.2 mg kg^{-1}) para un suelo agrícola y se considera tóxica para las plantas (a partir de 4.5 mg kg^{-1} ; Chang y Broadbent, 1981). Sin embargo, no se encuentran registros previos de la concentración extractable con DPTA de Cu, Zn, Fe, Mn, Ni y Cd para sitios contaminados con este tipo de residuos. Por lo que no se tiene referencia de los valores y es difícil hacer alguna comparación. Tampoco se tienen los límites establecidos para Cu, Zn, Fe y Mn en las normas mexicanas para suelo de uso industrial. Las concentraciones de Zn, Fe, Mn, Ni y Cd (excepto Cu) se consideran en el intervalo normal para un suelo agrícola y no representan riesgo para el ambiente, ni los seres vivos. Así mismo, la concentración soluble de Cu y Fe se consideró normal (WHO, 1997), a pesar de encontrarse concentraciones excesivas de Cu en suelo.

La concentración de Na y de SO_4 fue de 4,951 y 643 mg kg^{-1} , respectivamente (Cuadro 2.3). Lo cual puede deberse a la adición de una solución concentrada de NaOH o Na_2CO_3 para neutralizar el H_2SO_4 (electrolito) y a los residuos de Na_2SO_4 en el proceso de desulfurización en el reciclaje de baterías de automóvil (Gong *et al.*, 1992; Basel, 2003). Por lo que el suelo se encuentra simultáneamente en condiciones de salinidad y con concentraciones excesivas de Pb y Cu. Al respecto, se sabe que los suelos sódicos son los más difíciles de remediar, debido que el alto porcentaje de sodio degrada las propiedades físicas del suelo y dificulta la estabilización de las plantas (Richards, 1973). Mientras que la concentración soluble de Cu y Fe se consideró normal (WHO, 1997).

2.5.2 Caracterización química en la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*

2.5.2.1 pH, CE y Eh en la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*

Al analizar las características del suelo rizosférico de *R. communis* en los muestreos se aprecia que el pH en la rizósfera fue alcalino en los tres muestreos (Cuadro 2.4). El pH

disminuyó a los 15 meses de edad de las plantas, con valores promedio de 7.7 (en 83% de las muestras) en comparación a los 5 y 10 meses. Mientras que, el pH máximo antes de iniciar el experimento fue de 10 (Cuadro 2.3). Las variaciones de pH observadas durante el crecimiento de las plantas de ricino son importantes porque la movilidad, disponibilidad y adsorción superficial de EPTs del suelo dependen del pH (Carrillo-González *et al.*, 2006). Por ejemplo, a un pH superior a 7.8, el Pb se precipita como carbonatos [Pb(CO)₃, Pb(CO₃)₂], hidróxidos [Pb(OH)₂] y sulfatos [PbSO₄]. Estas formas químicas se reportaron en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (Hessling *et al.*, 1986).

También, en el presente trabajo se observó que el pH en los diferentes muestreos y por la inoculación con los tratamientos fúngicos presentó diferencia significativa en el análisis longitudinal. Todas las diferencias en los tratamientos se discuten ampliamente más adelante (Sección 2.5.7).

Cuadro 2.4. Cinética de la caracterización química de la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*.

Variable	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Clasificación
		Media	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
pH	5	8.1 a	7.2	8.9	0.0001	0.04	Alcalino †
	10	8.2 a	7.4	9.3			
	15	7.7 b	6.8	8.8			
CE (dS m ⁻¹)	5	1.0 a	0.1	5.2	0.520	0.62	Normal ¶
	10	0.9 a	0.2	5.2			
	15	1.0 a	0.3	5.4			
Eh (mV)	5	354 a	309	427	0.0001	0.95	Oxidante §
	10	335 b	279	361			
	15	355 a	310	432			
MO (%)	5	0.7 b	0.3	2.2	0.007	0.25	Pobre Þ
	10	0.8 b	0.4	1.6			
	15	1.0 a	0.4	2.7			

Se presentan valores promedio, n=35. CE: conductividad eléctrica, Eh: potencial de óxido-reducción, MO: materia orgánica, Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa (p < 0.05) con base en el análisis longitudinal realizado. †Jones y Wolf (1984), ¶Brady y Weil (2008), §Kabata-Pendias (2000), ÞFassbender y Bornemisza (1987).

El promedio de la CE en la rizósfera de *R. communis* fue de 1 dS m⁻¹ (Cuadro 2.4). El 91% de las muestras analizadas se encontraron dentro de los intervalos normales de CE para un suelo agrícola (Brady y Weil, 2008). Solamente 9% de las muestras rizosféricas se consideraron salinas (con valores máximos de 5.4 dS m⁻¹), lo cual podía deberse a la alta concentración de Na y SO₄. Al respecto, Hessling *et al.* (1986) reportaron en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóviles, que una de las especies de Pb predominantes fue en forma de sulfato (PbSO₄), lo cual podría explicar la alta concentración soluble de Pb y SO₄. Además, esta condición de salinidad puede deberse a problemas de drenaje en el mismo (Peralta *et al.*, 2013). Mientras que, el suelo antes de iniciar el presente experimento fue salino (4 dS m⁻¹) con datos máximos de 13 dS m⁻¹ (Cuadro 2.3). La disminución en la CE podría deberse a la aplicación de la enmienda orgánica que aceleró la lixiviación de Na y por lo tanto la reducción del porcentaje de Na intercambiable y la CE (Richards, 1973).

El Eh se mantuvo en condiciones oxidantes durante todo el experimento (279-427 mV; Cuadro 2.4). Los mayores valores se observaron a los 5 y 15 meses de edad de las plantas, en comparación con los 10 meses. Los muestreos a los 5 y 15 meses correspondieron al invierno del 2014 y otoño del 2015, muestreos con mayor sequía en comparación a los 10 meses que coincidió con la época de lluvia (primavera del 2015). En estas condiciones de sequía, el suelo podría tener mayor aeración y por lo tanto mayor estado de oxidación (Adriano, 2001). El Eh influye en la oxidación de varios EPTs (Cu, Fe, Mn y Hg), así como en su solubilidad (Kabata-Pendias, 2000).

El contenido de MO fue bajo (Cuadro 2.4). Los valores a los 5 y 10 meses de edad de las plantas fueron menores que a los 15 meses, lo cual puede deberse a la acumulación de MO en el último muestreo. Este incremento es importante porque la MO estabiliza a los EPTs como el Pb, por atracción electrostática y formación de enlaces o quelatos solubles (Manceau *et al.*, 1996; Sauve *et al.*, 2000). En este estudio, el contenido de MO fue similar a los valores (0.6±0.3%) reportados por Schneider *et al.* (2016) en un sitio contaminado con residuos de baterías automotrices en Brasil.

2.5.2.2 Concentración total de EPTs en la rizósfera de *Ricinus communis*

La concentración total de Pb en el suelo rizosférico de *R. communis* fue muy alta de 40,426 mg kg⁻¹ a los 15 meses de edad de las plantas (Cuadro 2.5). La concentración excede 51 veces a la concentración límite de Pb que la NOM-147 establece para suelo de uso industrial. Es importante destacar que 2,500 mg kg⁻¹ de Pb en suelo se considera el nivel de intervención para áreas industriales en Bélgica (Adriano *et al.*, 1997). Sin embargo, esta concentración es mayor que 300 mg kg⁻¹ de Pb; valor que se propone como umbral tóxico humano (Van den Berg, 1993). La concentración total de Pb fue menor a los 5 meses de edad de la planta de ricino en comparación a los 10 y 15. Lo anterior podría deberse al efecto de dilución por la adición de suelo, aserrín, vermicomposta y los tratamientos fúngicos al inicio del experimento. Además de la condición de sequía durante los primeros meses, lo cual influye fuertemente en la movilidad del Pb (Basta *et al.*, 2005). Al transcurrir el tiempo, la concentración incrementó hasta igualar estadísticamente la concentración de Pb (41,893 mg kg⁻¹) al inicio del experimento (Cuadro 2.3).

Los valores promedio de los tres muestreos, de la concentración total de Pb fueron menores a los que reportaron Ogundiran y Osibanjo (2009). Estos autores reportaron 85,600 mg kg⁻¹ en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil en Nigeria. Sin embargo, estos valores promedio fueron mayores a 14,400 mg kg⁻¹; valor reportado por Nedwed y Clifford (2000) en suelo contaminado con residuos de baterías en Estados Unidos. Mientras que los valores máximos de Pb (134,055 mg kg⁻¹) en el presente estudio concuerdan con los valores que reportaron Pichtel *et al.* (2000). Estos autores observaron 140,500 mg kg⁻¹ de Pb en un suelo contaminado con residuos de baterías en Estados Unidos. La alta contaminación de Pb se debe al manejo inadecuado de los desperdicios del reciclaje de baterías (Gong *et al.*, 1992; Nedwed y Clifford, 1997).

La concentración total de Cu en el suelo rizosférico fue significativamente diferente en las tres etapas de crecimiento de *R. communis*, presentando valores superiores a los 5 meses de edad de las plantas (Cuadro 2.5). Esta concentración fue al menos dos veces mayor que 100 mg kg⁻¹; valor establecido como normal para suelo (Lindsay, 1979). Los resultados

muestran que en el presente estudio además de la alta concentración de Pb, también se observó alta concentración de Cu.

Cuadro 2.5. Concentración total de EPTs (mg kg^{-1}) de la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*.

EPTs	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia (mg kg^{-1})
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
Pb	5	17,949 b	1,425	60,770	0.0001	0.22	≥ 800 †
	10	54,920 a	5,084	134,055			
	15	40,426 a	5,736	128,021			
Cu	5	358 a	49	1,229	0.0900	0.45	≥ 1000 ¶
	10	229 b	33	632			
	15	229 ab	75	1,473			
Zn	5	99 a	26	358	0.0001	0.08	$\geq 3,000$ ¶
	10	45 b	29	60			
	15	59 b	21	68			
Fe	5	7,883 b	1,642	28,169	0.0001	0.97	$\geq 350,000$ ¶
	10	19,176 a	1,307	83,831			
	15	15,042 a	8572	34,803			
Mn	5	336 a	129	762	0.0001	0.17	$\geq 3,000$ ¶
	10	100 b	10	251			
	15	165 b	13	291			
Cd	5	4 a	2	9	0.0001	0.70	≥ 30 ¶
	10	2 b	0	5			
	15	1 b	0	2			

Se presentan valores promedio, $n=35$. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. Ni, no se reportó, debido a que no se detectó o se observó muy baja concentración. †NOM-147 (uso en suelo industrial), ¶ Aguilar et al. (1999) (uso en suelo industrial).

La concentración de Cu se consideró alta según Van den Berg (1993); quien mencionó que concentraciones de 190 mg kg^{-1} de Cu en el suelo se consideran eco-tóxicas. Sin embargo,

la concentración total de Cu en el suelo rizosférico de los tres muestreos fue menor que 500 mg kg⁻¹; valor límite para la intervención en áreas recreativas en Bélgica (Adriano *et al.*, 1997). En este sentido, solo 11% de las muestras presentaron valores mayores al valor antes mencionado (Adriano *et al.*, 1997), por lo tanto, se recomienda precisar la posible toxicidad del Cu (Aguilar *et al.*, 1999) presente en el sitio de estudio. Cabe destacar que los resultados muestran que en el presente estudio, además de alta concentración de Pb también se observa alta concentración de Cu, lo cual se reportó por Adegoke *et al.* (2009) en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

El promedio de las concentraciones totales de Zn (62 mg kg⁻¹), Fe (14,034 mg kg⁻¹), Mn (200 mg kg⁻¹) y Cd (2 mg kg⁻¹) en el suelo rizosférico de los tres muestreos se presentaron dentro del intervalo normal de concentración en el suelo (Lindsay, 1979). Estas concentraciones variaron significativamente con el tiempo, pero no se observó diferencia en los tratamientos fúngicos. La concentración de Zn, Mn y Cd fue mayor a los 5 meses de edad de las plantas en comparación con la concentración de estos elementos a los 10 y 15 meses de edad. Lo cual puede deberse a que estos EPTs incrementan su concentración cuando la humedad es baja (época de sequía), las concentraciones son mayores en contraste con Pb. Mientras que al final del experimento el pH fue de 7.7. Mientras que la concentración de Fe aumentó a los 10 y 15 meses de edad de las plantas en comparación con el primer muestreo (5 meses). En contraste, Alloway (1995) mencionó que la concentración de Fe disminuye con el tiempo.

2.5.2.3 Concentración extractable de EPTs en la rizósfera de *Ricinus communis*

La concentración extractable de Pb sobrepasa al menos 10 veces el valor que establece la NOM-021 (300 mg kg⁻¹) dentro de los límites normales para uso de suelo agrícola (Cuadro 2.6). La concentración de Pb a los 10 meses de edad sobrepasa la concentración de 5.5 mg kg⁻¹; la cual coincide con la concentración fitotóxica (Chang y Broadbent, 1981). Sin embargo, la concentración extractable de Pb a los 10 meses de edad de las plantas (4,520 mg kg⁻¹) fue menor que en la concentración antes de iniciar el experimento (6,246 mg kg⁻¹). La concentración extractable de Pb fue mayor a los 10 meses de edad de las plantas de

ricino que a los 5 y 15 meses de edad (Cuadro 2.6). Es necesario mencionar que el muestreo a los 10 meses de edad se realizó en temporada con alta temperatura ambiental (mayo, 2014). Debido a la pérdida de humedad en el suelo, la concentración extractable de Pb podría ser mayor en la parte superficial del mismo, mientras que en época de lluvia estos contaminantes se disuelven o se mueven a otros horizontes (Basta *et al.*, 2005). Cabe destacar, que el índice de disponibilidad de Pb fue mayor a los 5 meses de edad (18.9%) que a los 10 y 15 meses (8.6% y 7.0%, respectivamente). Estos resultados sugieren que el Pb fue retenido tanto por la enmienda orgánica como en la rizósfera de *R. communis* y por lo tanto su presencia en la fracción extractable disminuye con el tiempo.

Cuadro 2.6. Concentración extractable de EPTs (mg kg⁻¹) en la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*.

EPTs	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Referencia (mg kg ⁻¹)
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
Pb	5	3,402 b	616	7,902	0.0001	0.07	≥300 †
	10	4,520 a	319	1,0388			
	15	2,837 b	519	5,720			
Cu	5	13 b	5	32	0.020	0.99	≥2.5 ¶
	10	15 a	5	36			
	15	16 a	4	43			
Zn	5	5 a	2	9	0.0001	0.91	≥8.0 ¶
	10	4 b	1	7			
	15	3 b	2	6			
Fe	5	11 c	1	48	0.0001	0.90	≥4.5 † †
	10	39 a	4	118			
	15	24 b	10	56			
Mn	5	3 b	1	5	0.0001	0.57	>50 ¶
	10	3 ab	1	9			
	15	5 a	1	8			

Se presentan valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa (p < 0.05) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. Ni y Cd no se reportaron debido que no se detectaron o su concentración fue muy baja. †NOM-021 (nivel alto en suelo); ¶Ankerman y Large (1978) (nivel alto en suelo).

En el presente estudio, la concentración extractable de Pb ($2,837 \text{ mg kg}^{-1}$) en el último muestreo (15 meses) fue mayor que la concentración que reportaron Gomes *et al.* (2014). Estos autores observaron que la concentración extractable de Pb fue de $1,810.8 \text{ mg kg}^{-1}$ en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil en Brasil. Sin embargo, no existen otros trabajos que mencionen la concentración extractable de Pb con DTPA, por lo que, no se pueden comparar correctamente los resultados (Feng *et al.*, 2005). Existen otros trabajos que mencionaron las concentraciones extractables con MgCl_2 y con EDTA de Pb en este tipo de sitios; cuyos resultados fueron de $8,870 \text{ mg kg}^{-1}$ (Ogundiran y Osibajo, 2009) y $12,495 \text{ mg kg}^{-1}$ (Pichtel *et al.*, 2000). El análisis longitudinal en la concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico mostró diferencia significativa ($P > 0.07$) debido a los tratamientos fúngicos. Esta diferencia se discute ampliamente más adelante (Sección 2.5.7).

La concentración extractable de Cu en el suelo rizosférico fue alta en comparación con los valores que reportaron Chang y Broadbent (1981) para suelo de uso agrícola (4.2 mg kg^{-1}). La concentración extractable de Cu fue mayor a los 10 y 15 meses de edad de las plantas de ricino que a los 5 meses de edad (Cuadro 2.6). Lo cual podría deberse a que el Cu presenta cierta movilidad en el horizonte A, el cual presenta MO (Sposito, 1984; Basta *et al.*, 2005). La presencia de la MO en el suelo puede incrementar la fracción disponible de Cu (Kabata-Pendias, Pendias 2000).

La concentración extractable de Zn, Fe y Mn en todos los muestreos (Cuadro 2.6) fue mayor que los valores que reportaron Rajj *et al.* (1996) para los suelos no contaminados (2 mg kg^{-1} de Zn, 24 mg kg^{-1} de Fe y 9 mg kg^{-1} de Mn). Sin embargo, estas concentraciones no se consideran tóxicas para plantas (Chang y Broadbent, 1981) ni altas en suelo (Ankerman y Large, 1978). Es importante mencionar que los límites máximos permisibles para la concentración extractable de estos EPTs no están descritos en la NOM-121.

2.5.2.4 Concentración soluble de EPTs y sales en la rizósfera de *Ricinus communis*

La concentración soluble de Pb fue excesiva y representa riesgo ambiental, ya que ésta es la fracción más disponible para los seres vivos (Aguilar *et al.*, 2004). La concentración soluble de Pb fue mayor a 0.5 mg kg^{-1} ; valor límite que se reporta en la NOM-147 para suelo no contaminado. Sin embargo, la concentración de Pb fue menor a 113 mg kg^{-1} (Ogundiran y Osibajo, 2009) y 235 mg kg^{-1} (Pichtel *et al.*, 2000); que fueron los valores reportados para sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil. La concentración soluble de Pb fue mayor a los 5 meses de edad de las plantas de ricino que a los 10 y 15 meses de edad (Cuadro 2.7). Lo cual podría deberse a que el índice de disponibilidad de Pb fue mayor a los 5 meses de edad que a los demás muestreos. Esto podría indicar mayor formación de complejos solubles de Pb en las partículas (orgánicas o minerales) a los 5 meses de edad. Además, en este último muestreo, se reportó la mayor concentración de Pb soluble lo cual podría deberse a la condición de sequía y baja temperatura ambiental (Adriano *et al.*, 1997).

La concentración soluble de Cu fue mayor a los 10 y 15 meses de edad de las plantas que a los 5 meses de edad (Cuadro 2.7). Este incremento podría deberse a las condiciones de temporal como la lluvia o la temperatura ambiental (Zimdahl y Skogerboe, 1997). El aumento de la concentración soluble de Cu se relaciona con la formación de los complejos orgánicos e inorgánicos solubles (Kabata-Pendias, 2011). Es importante mencionar que la concentración soluble de Cu en el presente estudio sobrepasó 0.7 mg kg^{-1} y 0.3 mg kg^{-1} ; valores límites máximos propuestos por Ewers (1991) y Bohn *et al.* (1985) para evitar toxicidad del Cu en las plantas.

La concentración soluble de Fe en el suelo rizosférico no tuvo diferencia significativa con respecto al tiempo. Lo cual podía deberse a que el Fe permanece absorbido, sin movilidad en el suelo (Kabata-Pendias, 2011). La concentración de Fe en el presente estudio fue mayor al valor (0.24 mg kg^{-1}) que reportaron Schneider *et al.* (2016) para sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil en Brasil. Este dato es importante

porque los óxidos de Fe podrían estar involucrados en la retención de EPTs (Kabata-Pendias, 2011).

Cuadro 2.7. Concentración soluble de EPTs y sales (mg kg^{-1}) de la rizósfera de las plantas de *Ricinus communis*.

EPTs	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia (mg kg^{-1})
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat)	
Pb	5	45 a	17	108	0.0002	0.39	≥ 0.5 †
	10	23 b	0	80			
	15	28 b	1	82			
Cu	5	4 b	1	12	0.0001	0.36	≥ 2 ¶
	10	8 a	1	39			
	15	8 a	1	22			
Fe	5	5 a	1	15	0.70	0.70	≥ 1 ¶
	10	5 a	0	27			
	15	6 a	0	26			
K	5	242 a	81	373	0.0001	0.45	≥ 100 §
	10	81 c	13	154			
	15	115 b	9	319			
Na	5	371 a	70	2,332	0.19	0.36	≥ 200 ¶
	10	530 a	181	2,423			
	15	417 a	131	2,316			
SO ₄	5	5 a	1	15	0.45	0.46	≥ 200 ¶
	10	5 a	0	27			
	15	6 a	0	26			

Se presentan valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. Zn, Mn, Ni y Cd no se reportaron debido que no se detectaron o se observó baja concentración. †NOM-147 (nivel alto en suelo); ¶WHO, 1997 (nivel alto en agua). § Knudsen *et al.*, 1982 (nivel alto en suelo).

La concentración soluble de Na en el suelo rizosférico se presenta en el Cuadro 2.7. La concentración de Na no cambió significativamente con el tiempo, ni con los tratamientos

fúngicos. Esta concentración excede al menos dos veces la concentración límite de Na que establece la organización mundial de la salud (WHO, 1997) para Na soluble en agua. La alta concentración de Na, aparte de originar salinización sódica en el suelo, induce la defloculación del mismo, es decir provoca la dispersión de los coloides, destruyéndose los agregados estructurales y proporcionando la pérdida de permeabilidad (Serrano y Glaxiola, 1994). La concentración de Na fue menor que el valor que reportaron Nedwed y Clifford (2000). Estos autores reportaron 1,449 mg kg⁻¹ de Na en suelo contaminado con residuos de baterías en Estados Unidos. Sin embargo, la concentración de Na en el presente estudio fue mayor a los valores que obtuvieron Freitas y Nacimiento (2016). Estos autores reportaron 54.4 mg kg⁻¹ de Na en suelo contaminado residuos de baterías de automóvil en Brasil.

La concentración soluble de SO₄ en el suelo rizosférico fue baja. Además, la concentración de SO₄ no presentó diferencia significativa con el tiempo, ni los tratamientos fúngicos (Cuadro 2.7). La concentración de SO₄ fue menor que el valor que reportó Jones (1986). Quien observó 10 mg kg⁻¹ de Na en suelo no contaminado. Es importante mencionar que la concentración de SO₄ fue menor que los valores antes de establecerse el experimento (Cuadro 2.3). Lo cual podría deberse a la adición de la MO.

La concentración soluble de K en suelo rizosférico fue diferente significativamente en todos los muestreos (5>15>10 meses de edad de las plantas; Cuadro 2.7). Sin embargo, la concentración de K a los 5 y 15 meses fue mayor que el valor establecido por Knudsen *et al.* (1982). Estos últimos autores mencionaron que 100 mg kg⁻¹ es el valor límite máximo para K soluble en suelos no contaminados. Sin embargo, la concentración de K en el presente estudio fue mayor de 59 mg kg⁻¹, valor que se obtuvo al inicio del experimento (Cuadro 2.3). Este incremento en la concentración soluble de K podría deberse a la adición de MO; el cual podría aumentar la formación en el proceso de intercambio en el suelo (Kabata-Pendias, 2001). La concentración de K en el presente estudio fue menor que los valores reportados por Lima *et al.* (2015) y Freitas y Nacimiento (2016). Estos autores obtuvieron 19 mg kg⁻¹ y 12 mg kg⁻¹ de K (respectivamente) para sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil.

2.5.3. Agroproductividad de las plantas de *Ricinus communis*

Las plantas de ricino presentaron valores promedio de 59 cm de altura, 11 hojas, 28 nudos y 6 cm de perímetro del tallo principal a los 15 meses de edad (Figura 2.2). Las plantas presentaron en promedio dos racimos con 37 g de semillas por planta, 44 g del peso de 100 semillas y 43% del contenido de aceite en sus semillas. Estos datos fueron notablemente menores que los reportados por Cuellar-Sánchez *et al.* (2016), para la misma accesión (SF7) que creció en suelo no contaminado. Esta diferencia podría deberse a la alta concentración de Pb (Romeiro *et al.*, 2006), Cu y sales (Richards, 1973) en el suelo; lo cual puede reducir considerablemente el rendimiento de los cultivos (Janmohammadi *et al.*, 2012).

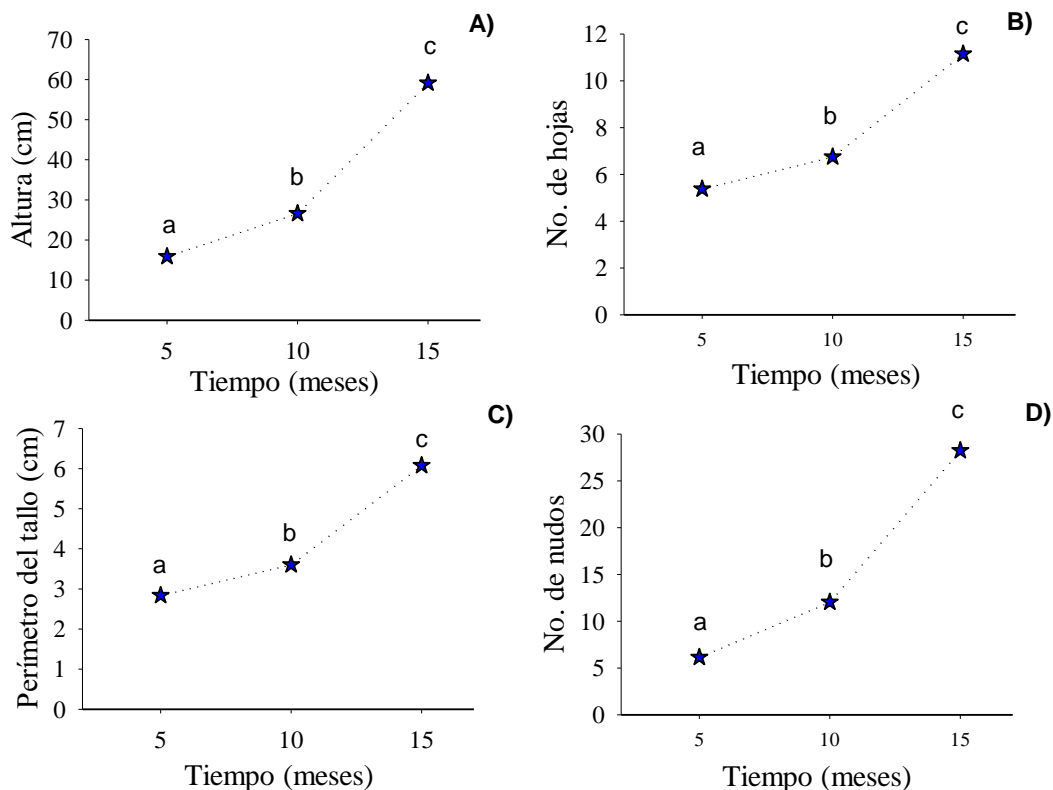


Figura 2.2. Cinética de crecimiento de las plantas de *Ricinus communis* al crecer en sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil. A) altura, B) número de hojas, C) perímetro de tallo principal y D) número de nudos. Se presentan valores promedio, n=35.

Ruíz-Olivares *et al.* (2013) reportaron que las plantas de ricino que crecieron en forma natural en suelos con altas concentraciones de EPTs (se desconoce la edad) alcanzaron altura máxima de 3 m, con 79 racimos y 14,852 semillas para la misma accesión. Esta

diferencia en las plantas podría deberse a la alta toxicidad de residuos del reciclaje de baterías de automóvil (Blacksmith Institute, 2012), entre las que se encuentra la salinidad. Richards (1970) reportó a *R. communis* como una planta altamente sensible a la salinidad, En contraste, en el presente trabajo se observó que las plantas de ricino fueron tolerantes a la salinidad; lo cual concuerda con Baudh y Singh (2012). Estos autores reportaron que esta planta puede establecerse en condiciones de salinidad y contaminación por Cd. Sin embargo, existe poca información del crecimiento de esta especie vegetal en suelos contaminados con residuos de baterías de automóvil (Gomes *et al.*, 2014; Scheider *et al.*, 2016).

En el presente estudio las plantas de ricino tuvieron 89% de sobrevivencia. Además, esta especie vegetal fue capaz de formar frutos en concentraciones excesivas de Pb y Cu. Lo cual sugiere que estas condiciones adversas no fueron limitantes para el desarrollo de las plantas. En el sitio de estudio, se registra diversidad vegetal secundaria alrededor de *R. communis*, lo cual sugiere que el establecimiento de esta planta, así como la adición de la enmienda orgánica promueven el establecimiento de la cobertura vegetal. Esta cobertura vegetal puede evitar la erosión del suelo y la dispersión de los contaminantes.

En el presente trabajo se observó que el peso de semilla y el porcentaje de aceite presentaron diferencia significativa por la inoculación de los tratamientos fúngicos (Sección 2.5.7). Sin embargo, en el caso de la altura, el perímetro del tallo, el número de nudos y el número de hojas en las plantas no mostraron efectos por la inoculación de los tratamientos fúngicos.

2.5.3.1 Perfil de análisis de ácidos grasos en aceite de *Ricinus communis*

El perfil de ácidos grasos de aceite de semillas de ricino fue de 78.1 a 86.6% de ácido ricinoleico (con un promedio de 83%; C18:1), seguido de 1.1 a 2.5% de ácido oleico (C18:1), 0.3 a 1.2% de linoleico (C18:2), 0.3 a 0.9% de esteárico (C18:0), 0.2 a 0.9% de palmítico (C16:0), 0.1 a 0.9% de palmitoleico (C16:1) y 0.5 a 0.7% de mirístico (14:0). Estos porcentajes son similares a los reportados anteriormente para *R. communis* que crece tanto en sitios no contaminados (Jumat *et al.*, 2010; Anastasia *et al.*, 2015) o contaminados

con EPTs (González-Chávez *et al.*, 2015). El ácido graso con mayor variabilidad fue el ácido palmitoleico, lo cual concuerda con los datos reportados por Li y Beveridge (2003). Estos autores atribuyen esta variabilidad a la síntesis de otros ácidos grasos (triacilglicéridos) en las semillas. En varias especies vegetales, el Pb puede causar cambios en la composición lipídica, con la reducción de la concentración de ácidos grasos saturados y aumento en los ácidos grasos insaturado (Stefanov *et al.*, 1995). En el presente estudio, hubo diferencia estadísticamente significativa en la concentración de algunos ácidos grasos con respecto a los diferentes tratamientos fúngicos (Sección 2.5.7). La composición de ácidos grasos es importante porque de ello dependerá su posible uso industrial, por ejemplo en la elaboración de biocombustibles (Goodarzi *et al.*, 2012).

2.5.4 Concentración de EPTs, calcio y fósforo en la parte aérea de *Ricinus communis*

En todos los muestreos, la concentración de Pb en la parte aérea de las plantas (Cuadro 2.8) fue dos veces menor de 300 mg kg^{-1} , el cuál es el valor límite máximo de toxicidad para plantas (Kabata-Pendias, 2011). La concentración de Pb en la parte aérea fue menor a los 5 meses de edad (64 mg kg^{-1}) que a los 10 y 15 meses con 166 y 159 mg kg^{-1} , respectivamente (Cuadro 2.8). La concentración de Pb en la planta a los 15 meses fue menor que la presentada por Schneider *et al.* (2016). Estos autores reportaron que *R. communis* acumuló 625 mg kg^{-1} de Pb en la parte aérea al crecer en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (se desconoce la edad). En este trabajo a pesar que la concentración extractable de Pb en el suelo fue de $3,456 \text{ mg kg}^{-1}$, *R. communis* solo acumuló 245 mg kg^{-1} de Pb. Mientras que las concentraciones de Pb en plantas de ricino que crecen en sitios contaminados con $1,932 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb (extractable) procedente de residuos de mina fue de $20\text{-}250 \text{ mg kg}^{-1}$ (Ruíz-Olivares *et al.*, 2013). Romeiro *et al.* (2006) y Alves *et al.* (2016) reportaron 600 mg kg^{-1} y 400 mg kg^{-1} de Pb en la parte aérea de ricino. Sin embargo, estos autores realizaron su investigación bajo condiciones hidropónicas durante 40 y 30 días, respectivamente. Es importante mencionar que la concentración de Pb en la parte aérea vegetal presentó diferencia significativa en cuanto a los tratamientos fúngicos ($p > 0.07$) por medio del análisis longitudinal (Sección 2.5.7).

Cuadro 2.8. Concentración de EPTs, calcio y fósforo (mg kg^{-1}) en la parte aérea de las plantas de *Ricinus communis*.

Variable	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia (mg kg^{-1})
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
Pb	5	64 b	22	220	0.0001	0.07	30-300 †
	10	166 a	24	663			
	15	159 a	16	577			
Cu	5	14 a	3	27	0.0001	0.59	20-100 †
	10	17 a	7	36			
	15	5 b	0	24			
Zn	5	19 b	13	29	0.0001	0.65	100-400 †
	10	37 a	18	53			
	15	4 c	0	17			
Fe	5	164 ab	71	1070	0.0001	0.58	18-1000 ¶
	10	293 a	83	1240			
	15	115 b	23	540			
Mn	5	56 b	30	98	0.0001	0.95	400-1000 †
	10	70 a	25	168			
	15	30 c	7	67			
Ca	5	1,534 a	996	2021	0.0001	0.61	6,716 §
	10	1,512 ab	951	2120			
	15	1,772 b	1276	2151			
P	5	310 a	162	527	0.0001	0.30	3,960 §
	10	280 a	137	548			
	15	180 b	96	329			

Se presentaron valores promedio, $n=35$. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. †Kabata- Pendias 2011 (Concentración excesiva o tóxica); ¶ Kabata-Pendias 2011 (Concentración normal), §Chandrashekar *et al.*, 2013 (concentración de Ca y P en ricino, en sitios no contaminados).

La concentración de Cu, Zn, Fe, Mn, Ca y P en la parte aérea de *R. communis* disminuyó a los 15 meses de edad de las plantas y no se observó diferencia significativa por los

tratamientos fúngicos (Cuadro 2.8). De acuerdo a Kabata-Pendias (2011), la concentración de Zn (27-150 mg kg⁻¹), Fe (18-100 mg kg⁻¹) y Mn (30-300 mg kg⁻¹) fue normal en la parte aérea de las plantas. La concentración de estos EPTs aumentó a los 10 meses de edad de la planta. Lo cual puede deberse principalmente a la etapa de floración (Bates, 1971). También, este autor observó que en sequía aumentaron algunos nutrientes (Mn, Fe y Zn) en diversas hortalizas sembradas en suelo no contaminado. En el caso de la concentración de Cu, solo 13% de las muestras presentaron concentraciones con valores catalogados como excesivos para plantas (Kabata-Pendias, 2011).

En el presente estudio se observó el aumento de la concentración de Ca en la parte aérea a los 15 meses de edad de las plantas (Cuadro 2.8) en comparación con los 5 meses. Este incremento en la concentración podría deberse a la acumulación de Ca en las hojas, ya que éste se encuentra inmóvil dentro de la planta (Kabata-Pendias, 1992). Además, el Ca puede tener efecto protector sobre la toxicidad del Pb, debido a que el Ca puede bloquear la traslocación de Pb dentro de las raíces de las plantas (Huang y Cunningham, 1996). Sin embargo, la concentración de Ca en la parte aérea de las plantas fue dos veces menor de 3,916 mg kg⁻¹, valor mínimo reportado para plantas de *R. communis* que crecen en sitios no contaminados (Chandrashekar *et al.*, 2013). La baja concentración de Ca podría deberse al exceso de contaminación por Pb y sales en el suelo, además de su transporte competitivo Pb-Ca dentro de las células vegetales e las raíces de las plantas (Huang y Cunningham, 1996; Sharma y Dubey, 2005).

La concentración de P en la parte aérea de las plantas disminuyó con la edad de las plantas y no se observó diferencia significativa por los tratamientos fúngicos (Cuadro 2.8). El intervalo observado fue de 310 a 180 mg kg⁻¹. Estos valores son bajos y se consideran deficientes en comparación con los observados por Chandrashekar *et al.* (2013). Estos autores reportaron de 1,250 a 3,960 mg kg⁻¹ de P (0.125% a 0.396%) para ricino en sitios no contaminados. McGrath (1998) describió que la deficiencia de P en las plantas se debe a la presencia de Pb en el suelo. Estos autores atribuyen dicha respuesta a posibles perturbaciones en la membrana plasmática en las células de las raíces causadas por la excesiva concentración de Pb.

El factor de acumulación (FA) de Pb y Cu en la parte aérea de las plantas fue bajo (0.06 ± 0.08 y 0.33 ± 0.026) a los 15 meses de edad de las plantas. El FA mayor de 1 es indicador de la capacidad que tiene la planta para acumular EPTs en la parte aérea de las especies vegetales. Los resultados confirman que *R. communis* se comporta como una planta excluyente de EPTs y no como acumuladora o hiperacumuladora de Pb, como ha sido reportada por otros investigadores (Ananthi *et al.*, 2002; Romeiro *et al.*, 2006). Al respecto, no se tienen informes sobre el FA de *R. communis* al crecer en suelos contaminados con residuos de baterías automotrices. Sin embargo, Ruíz-Olivares *et al.* (2013) mencionaron que las plantas de ricino al crecer en suelo contaminado con residuos de mina presentaron valores bajos de FA de Pb. Es importante mencionar que el índice de disponibilidad de Pb presentó diferencia significativa en cuanto a los tratamientos fúngicos (Sección 2.5.7).

A pesar de las altas concentraciones de Pb y Cu en el suelo, no se traslocaron al aceite de las semillas, ni se detectaron en la torta (semilla sin aceite). Al respecto, González-Chávez *et al.* (2015) señalaron que la concentración de EPTs en la torta y aceite de las semillas de *R. communis* que crecen en suelos contaminados con residuos de mina fueron similares a la concentración de las plantas creciendo en suelos no contaminados. Sin embargo, estos autores reportaron bajas concentraciones de Cd ($0-1.3 \text{ mg L}^{-1}$) y Pb ($0-2.2 \text{ mg L}^{-1}$). Mientras que en el presente estudio solo se detectó Zn en la torta ($56 \pm 11 \text{ mg kg}^{-1}$). La concentración de Fe se detectó tanto en la torta ($41 \pm 14 \text{ mg kg}^{-1}$) como en el aceite ($39 \pm 13 \text{ mg kg}^{-1}$). La concentración de Zn fue menor de 250 mg kg^{-1} , valor reportado para la torta en la misma accesión de *R. communis* (González-Chávez *et al.*, 2015). Sin embargo, estos autores no reportan la concentración de Fe en torta, ni en aceite en las semillas de las plantas. La ausencia de Pb y Cu, y las bajas concentraciones de Zn y Fe permiten sugerir que el aceite de ricino podría utilizarse como fertilizante (torta) y biocombustible (aceite) sin riesgos de biomagnificación y bioacumulación en la cadena alimenticia.

2.5.5 Estrés oxidativo en la parte aérea de *Ricinus communis*

2.5.5.1 Solutos osmoprotectores en las hojas de *Ricinus communis*

La concentración de azúcares solubles totales fue menor en las hojas de ricino a los 15 meses de edad de las plantas en comparación con los 10 meses de edad (Cuadro 2.9). Fue notable que a los 5 y 15 meses de edad, la concentración de azúcares soluble totales fue menor o igual que 14%, porcentaje mínimo que requieren las plantas para mantener su turgencia (Passioura, 1997). La concentración de azúcares solubles totales para *R. communis*, al crecer en suelo no contaminado con EPTs bajo estrés hídrico (primavera) fue menor a 42%, valor reportado por Karimi *et al.* (2012). En el presente estudio, la mayor concentración se reportó a los 10 meses de edad. Lo cual podría deberse a la respuesta bioquímica de las plantas en esta época para mantener su turgencia (Wang *et al.*, 1995; Nazarly *et al.*, 2011). Además, se sabe que la etapa de floración (a los 10 meses) influye marcadamente en la acumulación los azúcares solubles (Rolland *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2013). El incremento de estos compuestos es importante para asegurar el éxito reproductivo de la especie vegetal (Bernier *et al.*, 1993).

Cuadro 2.9. Solutos osmoprotectores en la parte aérea de las plantas de *Ricinus communis*.

Variable	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	Valor de referencia (mg kg ⁻¹)
Azúcar % mf	5	14 ab	9	22	0.0001	0.42	42 †
	10	20 a	12	35			
	15	12 b	7	28			
Prolina μM g ⁻¹ mf	5	7 a	6	11	0.0001	0.23	3-53 ¶
	10	3 b	3	4			
	15	2 c	2	4			

Se presentaron valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa (p< 0.05) con base en el análisis longitudinal realizado. mf: materia fresca; Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. †concentración de azúcares solubles totales en *R. communis* en estrés hídrico (Karimi *et al.*, 2012), ¶ concentración de prolina en *R. communis* en presencia de Cd y salinidad (Baudh y Singh, 2012).

La concentración de prolina disminuyó con la edad de las plantas de 7 a 2 $\mu\text{M g}^{-1}$ a los 5 y 15 meses, respectivamente. En contraste, existen numerosos estudios que mencionan que la concentración de prolina incrementará con el tiempo de exposición a Pb en las plantas (Sharma y Dubey 2005; Sharma *et al.*, 2011). Por ejemplo, en frijol la concentración de prolina aumentó de 1.2 a 1.4 $\mu\text{M g}^{-1}$ con la adición de Pb en solución hidropónica durante siete días (Zengin y Munzuroglu, 2005). Sin embargo, en *R. communis* no se encontraron registros de la concentración de prolina en presencia de Pb. Solo se tienen registros en presencia de Cd o bajo estrés hídrico. Gharehbaghli (2015) observó alta acumulación de prolina (900 $\mu\text{M g}^{-1}$ de materia seca) en las hojas de ricino al crecer durante 90 días en suelo contaminado con 150 mg kg^{-1} de Cd. Baudh y Singh (2012) mencionaron que la concentración de prolina aumentó 17.7 veces (hasta 3 $\mu\text{M g}^{-1}$) en *R. communis* por efecto de Cd (100 mg kg^{-1}), NaCl (100 mM) y bajo estrés hídrico (irrigación cada 10 días) durante dos meses en condiciones hidropónicas. En el presente estudio la concentración de prolina fue menor a 13 $\mu\text{M g}^{-1}$. Este valor fue reportado por Karimi *et al.* (2012) en hojas de ricino cuando las plantas crecieron bajo estrés hídrico. La disminución de prolina observada en *R. communis* podría deberse a la excesiva contaminación de Pb y Cu (Xing *et al.*, 2010; Pourrut *et al.*, 2011) o por la acción de otro mecanismo de defensa como lo son las enzimas antioxidantes (Dai *et al.*, 2006).

2.5.5.2 Actividad enzimática en las hojas de *Ricinus communis*

La actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APX) fue menor a los 15 meses de edad de las plantas que a los 5 y 10 meses de edad (Cuadro 2.10). La disminución de la actividad de la APX y la SOD a los 15 meses de edad podría deberse a la unión de los EPTs en el centro activo de la enzima (Fatima y Ahmad, 2004). También, la enzima SOD se inactiva con alta producción de especies reactivas como el H_2O_2 (Sandalo *et al.*, 2001). En el presente estudio, la actividad de la SOD (10.6 U ms a los 10 meses de edad) fue menor que la actividad reportada por Malar *et al.* (2014), mientras que la actividad de la APX fue similar (1.4 U ms a los 10 meses de edad). Estos autores mencionaron que la actividad enzimática de la SOD aumentó significativamente de 50 a 250 U en hojas de *Eichhornia crassipes* al aplicar 800 mg L^{-1} de Pb durante 10 días. Sin embargo, la actividad fue de 180 U al aplicar 1000 mg L^{-1} de Pb en condiciones

hidropónicas. Así mismo, la actividad de la SOD, en el presente estudio, fue menor que los datos publicados por Bai *et al.* (2015). Estos autores observaron actividad de 90 U g⁻¹ ms en plantas de *Lolium perenne* creciendo en condiciones hidropónicas, al aplicar 500 µM de Pb(NO₃)₂ durante tres semanas. En *Ceratophyllum demersum*, que es una especie acuática, se ha documentado que la actividad de la APX y de la SOD disminuyó en presencia de 100 µM de Pb durante siete días (Mishra *et al.*, 2006). Sin embargo, la comparación con estos resultados es difícil debido a que la concentración depende de las condiciones de crecimiento y la especie vegetal vegetal y de las especies formadas por el Pb en el medio de crecimiento. En *R. communis* no se encontraron trabajos sobre la actividad de la SOD y la APX en presencia de Pb.

Cuadro 2.10. Actividad enzimática en la parte aérea de las plantas de *Ricinus communis*.

Variable	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
SOD U g ⁻¹ ms	5	9.9 a	4.4	15.8	0.0001	0.41	90 †
	10	10.6 a	2.8	15.3			
	15	2.9 b	0.3	4.3			
APX U g ⁻¹ ms	5	1.7 a	0.1	5.2	0.0001	0.20	0.24 †
	10	1.4 a	0.4	5.2			
	15	0.6 b	0.1	2.3			
Proteína mg g ⁻¹ ms	5	3.1 b	0.1	13.3	0.0001	0.77	16 ¶
	10	5.9 a	0.0	13.4			
	15	4.8 a	1.3	10.4			

Se presentaron valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa (p< 0.05) con base en el análisis longitudinal realizado. ms: materia seca. U: unidad de actividad enzimática. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. † Concentraciones en *Lolium perenne* en condiciones hidropónicas con Pb(NO₃)₂ (500 µM) durante 14 días (Bai *et al.*, 2015). ¶ Concentración en *Brassica campestris* en presencia de 500 µM de Pb durante 24 h (Singh *et al.*, 2011).

La actividad enzimática de la SOD y APX en las plantas de ricino no presentó diferencia significativa por los tratamientos fúngicos. En contraste, Yang *et al.* (2015) señalaron que *F. mosseae* y *R. irregularis* en asociación con *Robinia pseudoacacia* (falsa acacia)

incrementaron la actividad de estas dos enzimas al crecer en suelo contaminado con Pb (2,000 mg kg⁻¹). Por otra parte, Neagoe *et al.* (2014) reportaron que *R. irregularis*, *G. etunicatum* y *G. claroideum* en *Agrostis capillaris*, al crecer durante 10 meses en suelo contaminado con residuos de mina, redujeron la actividad de la SOD y de la APX. Estos autores mencionaron que la disminución de la actividad de estas enzimas se debía a la reducción del estrés oxidativo. La variación de los intervalos de respuesta de la planta puede estar asociada a la genética de las especies vegetales.

La concentración de proteína fue menor a los 5 meses en relación a los 10 y 15 meses de edad de las plantas (Cuadro 2.10). El aumento de la concentración de proteínas a los 10 y 15 meses podría deberse a que los EPTs, como el Pb inducen la producción de proteínas de estrés (Sharma y Dubey, 2005; Gupta *et al.*, 2010). Por ejemplo, la concentración de proteínas en la parte aérea de trigo aumentó con la exposición a Pb y Cd (Dey *et al.*, 2007). En el presente estudio, la concentración de proteína fue menor a 16.6 mg g⁻¹, valor similar observado en *Brassica campestris* bajo estrés por 500 µM de Pb durante 24 h (Singh *et al.*, 2011).

2.5.5.3 Compuestos fenólicos totales en las hojas de *Ricinus communis*

Existen investigaciones que mencionan que la concentración de los compuestos fenólicos totales, conocidos como agentes antioxidantes, incrementaron para eliminar los radicales libres en condiciones de estrés (Roya y Fatemeh, 2013) y como agentes quelantes de Pb (Lavid *et al.*, 2001). En el presente estudio, la concentración de compuestos fenólicos totales fue mayor a los 15 meses de edad de las plantas que a los 5 y 10 meses (Cuadro 2.11). Olivares (2003) mencionó que la concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de *Tithonia diversifolia* aumentó de 5% a 9% al aplicar 2 g kg⁻¹ de acetato de Pb durante 34 días. En las plantas de ricino no existen registros de la respuesta de los compuestos fenólicos en presencia de Pb, solo de Cd (Hadi *et al.*, 2015). Estos autores mencionaron que el contenido de estos compuestos en *R. communis* incrementó de 2% a 6% en condiciones hidropónicas al aplicar 20 mg L⁻¹ de Cd durante 28 días. También está documentado que la concentración de compuestos fenólicos totales mostró 9% en las hojas

de *R. communis* al crecer en sitios no contaminados (Saleem *et al.*, 2001), sin embargo se desconoce la edad de las plantas.

En el presente trabajo, el análisis longitudinal reveló que la concentración de los compuestos fenólicos fue diferente significativamente entre los muestreos y por la inoculación con los tratamientos fúngicos. Las diferencias en los tratamientos fúngicos se discuten ampliamente en la sección 2.5.7.

Cuadro 2.11. Concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de *Ricinus communis*.

Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia
	Promedio % ms	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	
5	15 b	6	24	0.0011	0.0353	2-5.9†
10	15 b	8	23			
15	18 a	0	30			

Se presentaron valores promedio, n=35. ms; materia seca. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. † Concentración en *R. communis* en presencia de Cd en condiciones hidropónicas durante 28 días (Hadi *et al.*, 2015).

2.5.5.4 Concentración de clorofila en las hojas de *Ricinus communis*

La concentración total de clorofila (Cl total) y clorofila a (Cl a) fue mayor a los 10 y 15 meses de edad de las plantas que a los 5 meses (Cuadro 2.12). Mientras que la clorofila b (Cl b) fue mayor a los 10 meses en comparación con los 5 meses. La concentración de la clorofila en todos los muestreos fue mayor que los valores reportados por Gomes *et al.*, (2014). Estos autores reportaron 2 mg g⁻¹ de Cl total, 1.5 de Cl a y 0.6 de Cl b en *R. communis* (L.) al crecer durante 4 meses en invernadero en suelos contaminados con residuos de baterías automotrices. Es importante destacar que en el presente trabajo no se observó disminución de la concentración en la Cl total, ni en la Cl a en el último muestreo, lo cual concuerda con Yllanes *et al.* (2014). Estos autores mencionaron que el contenido de clorofila en maíz incrementó al aplicar 5 mM de Pb en condiciones hidropónicas durante 21 días. En contraste lo observado en este experimento, diversos autores señalan la disminución de clorofila por presencia del Pb (Singh *et al.*, 1997; Sharma y Dubey 2005;

Mishra *et al.*, 2006) y sales (Pinheiro *et al.*, 2008). Debido principalmente a que el Pb puede inhibir de la actividad enzimática asociada con la biosíntesis de la clorofila, la fijación de CO₂ y la agregación de los complejos de proteínas en el fotosistema I y II (Sharman y Duvey, 2005).

La concentración de Cl b fue 2.6 veces menor que la Cl a, lo cual coincide lo reportado por Vodnik *et al.* (1999). Estos autores mencionaron que la Cl b fue de dos a tres veces menor que la Cl a en la conífera *Picea abies* expuesta a Pb bajo condiciones hidropónicas. Esta disminución en la Cl b podría deberse a que ésta es más sensible al Pb que la Cl a (Zengin y Munzuroglu, 2005).

Por otra parte, no se observó efecto significativo de los tratamientos fúngicos. En contraste Punamiya *et al.* (2010) concluyeron que la planta de *Chrysopogon zizanioides* inoculada con *F. mosseae* incrementó la concentración de la Cl b que fue expuesta en invernadero a 1,200 mg kg⁻¹ de Pb durante 28 días.

Cuadro 2.12. Concentración de clorofila (mg g⁻¹ ms) en la parte aérea de las plantas de *Ricinus communis*.

Variable	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F (Tiempo)	Pr > F (Trat.)	Valor de referencia
Clorofila Total	5	4.1 b	2.2	8.0	0.0001	0.57	2.1†
	10	5.3 a	1.1	8.7			
	15	5.3 a	2.6	8.5			
Clorofila a	5	2.9 b	1.1	6.1	0.0001	0.26	1.5†
	10	3.8 a	0.8	6.2			
	15	3.9 a	1.7	6.5			
Clorofila b	5	1.2 b	0.7	2.0	0.05	0.81	0.6†
	10	1.5 a	0.3	3.6			
	15	1.4 ab	0.8	2.0			

Se presentaron valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa (p< 0.05) con base en el análisis longitudinal realizado. ms: materia seca. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. †concentración de clorofila en ricino al crecer con 1,811 mg kg⁻¹ de Pb durante 120 días en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (Gomes *et al.*, 2014).

2.5.6 Frecuencia de colonización en las raíces de *Ricinus communis*

La máxima colonización micorrízica fue de 46% (considerando todos los tratamientos) a los 10 meses de edad de las plantas en el suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil (Cuadro 2.13). El análisis transversal reveló que la colonización micorrízica de las plantas inoculadas (48%) fue mayor que la colonización de plantas testigo (20%). Estos datos no se muestran en el Cuadro 2.13 debido a que el presente trabajo se centró en el análisis longitudinal. La colonización de las plantas sin inocular podría deberse a la presencia de cepas nativas del sitio, lo cual se tiene que comprobar en estudios posteriores. Schneider *et al.* (2016) observaron HMA principalmente del género *Acaulospora* y *Glomus*, en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil con altas concentraciones de Pb (3,456 mg kg⁻¹). En el presente estudio, la colonización micorrízica fue mayor que los valores reportados por Schneider *et al.* (2016). Estos autores observaron que las raíces de *R. communis* presentaron 25% de colonización micorrízica al crecer en suelo contaminado con residuos de baterías. Al respecto, se sabe que la colonización de los HMA puede diferir de acuerdo con las características del suelo (Hildebrandt *et al.*, 2007). Es importante mencionar que en el presente trabajo, los HMA inoculados mantuvieron 39% la colonización radical de *R. communis* a los 15 meses de edad, a pesar de las altas concentraciones de Pb y Cu y sales.

La colonización y porcentaje de hifas intraradicales fue mayor a los 10 meses que a los 5 y 15 meses de edad de las plantas (Cuadro 2.13). Lo cual coincidió con la temporada de sequía. Stürmer y Siqueira (2008) reportaron alta colonización y baja producción de esporas en época lluviosa, debido a que la humedad favorece la germinación de esporas. Sin embargo, estos autores llevaron a cabo el estudio sin condiciones de contaminación. Así mismo, la máxima colonización se logró en la etapa de floración de las plantas. Al respecto, Montaña *et al.* (2001) sugirieron que la colonización en las raíces de las plantas con metabolismo fotosintético C3 (como el ricino) aumenta en la etapa de floración y disminuye al final del ciclo reproductivo vegetal. Lo cual coincide con los resultados en el presente estudio. El porcentaje máximo de hifas se presentó en temporada de sequía a pesar que Smith y Read (2008) reportaron la disminución de estructuras fúngicas en esta

temporada en algunas especies vegetales. Sin embargo, al igual que la colonización micorrízica, el máximo porcentaje de hifas intracelulares en las raíces podría deberse a cambios fisiológicos en las plantas, como lo es la floración (Montaño *et al.*, 2001). Cabe mencionar que la colonización micorrízica, el porcentaje de hifas, vesículas y arbusculos no presentó diferencia significativa entre todas las cepas fúngicas a pesar de que dos aislados fúngicos provenían de sitios no contaminados, lo que implica alta capacidad adaptativa.

Cuadro 2.13. Frecuencia de colonización, hifas, vesículas y arbusculos en las raíces de las plantas de *Ricinus communis*.

Colonización (%)	Tiempo (meses)	Valores			Nivel de significancia		Valor de referencia
		Promedio	Mínimo	Máximo	Pr > F Tiempo	Pr > F (Trat.)	
Colonización total	5	41 ab	5	70	0.0210	0.2166	25% †
	10	46 a	5	80			
	15	39 b	10	80			
Hifas	5	26 b	5	45	0.0018	0.1846	
	10	34 a	5	65			
	15	26 b	9	55			
Vesículas	5	5 b	0	30	0.0012	0.5574	
	10	11 a	0	60			
	15	14 a	0	60			
Arbusculos	5	8 b	0	30	0.0002	0.1637	
	10	1 a	0	15			
	15	1 a	0	15			

Se presentan valores promedio, n=35. Letras en cada variable por columna muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) con base en el análisis longitudinal realizado. Trat.: esta columna indica el efecto significativo de los tratamientos fúngicos. † Schneider *et al.*, 2016 (valor en plantas de ricino al crecer en condiciones de campo en sitio contaminado con 3,456 mg kg⁻¹ de Pb procedente de residuos de batería de automóvil, se desconoce la edad).

El porcentaje de vesículas en las raíces fue mayor a los 10 y 15 meses que a los 5 meses (Cuadro 2.13). Se sabe que las estructuras fúngicas pueden variar con la edad de la planta, especialmente en plantas perennes (Sylvia y Willams, 1992), como lo es *R. communis*. Sin embargo, no se localizaron registros del porcentaje de vesículas de plantas que crecen en sitios contaminados con residuos de baterías de automóvil. Las vesículas son importantes

porque tienen funciones similares a las vacuolas en las plantas, involucradas en el almacenamiento de EPTs (Göhre y Paszkowski, 2006) como el Pb (Chen *et al.*, 2005). Por lo tanto, los HMA podrían utilizar este mecanismo de respuesta para evitar la traslocación de Pb hacia la parte aérea de las plantas.

El porcentaje de arbusculos en las raíces de las plantas fue bajo, en especial a los 10 y 15 meses de edad (Cuadro 2.13). La baja presencia de arbusculos podría deberse a la contaminación de Pb y Cu en el suelo rizosférico. El bajo porcentaje de arbusculos limita los beneficios que proporcionan los HMA a la planta, tales como el intercambio de nutrientes (Smith y Read, 2008). En el presente estudio no se observó la presencia de esporas de los HMA en las raíces de las plantas creciendo en condiciones de extrema contaminación de Pb y Cu.

2.5.7 Influencia de los hongos micorrízicos en las plantas de *Ricinus communis* en el sitio de estudio

Mediante el análisis longitudinal se demostró el efecto de la inoculación. Los tratamientos fúngicos tuvieron efecto significativo en diferentes variables: el pH en el suelo rizosférico, la concentración extractable de Pb, la concentración foliar de Pb y el contenido de compuestos fenólicos totales en las hojas de *R. communis*. Mientras que a través del análisis transversal se obtuvo efecto significativo en el factor de acumulación de Pb, el peso de las semillas y el porcentaje de aceite en las semillas. Así como, el porcentaje del ácido palmítico, oleico y linoleico, además del pH del suelo rizosférico

La Figura 2.3A muestra la influencia de los HMA en el suelo rizosférico. Las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp., *F. mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp. tuvo pH de 8.4, mientras que en la rizósfera de las plantas testigo el pH fue significativamente menor (7.7). Al respecto, Bago y Azcón-Aguilar (1997) observaron fuerte acidificación en la rizósfera de las plantas micorrizadas (utilizando el indicador de pH púrpura de bromocresol), en comparación con las plantas no micorrizadas (la acidificación estuvo casi ausente). Estos autores mencionan que estos cambios de pH inducidos por los HMA en el suelo incrementan la disponibilidad de nitrógeno en las plantas micorrízicas. En contraste, Bago

et al. (1996) y Villegas et al. (1996) reportaron el aumento del pH inducido por *R. irregularis* en experimentos *in vitro*. Se sabe que el pH es uno de los factores más importantes que tiene efecto sobre la disponibilidad y movilidad de EPTs en el suelo (Kabata-Pendias, 2011). En este caso, la reducción del pH en el suelo rizosférico podría proporcionar mayor disponibilidad de EPTs como: el Pb, Cu, Zn y Mn.

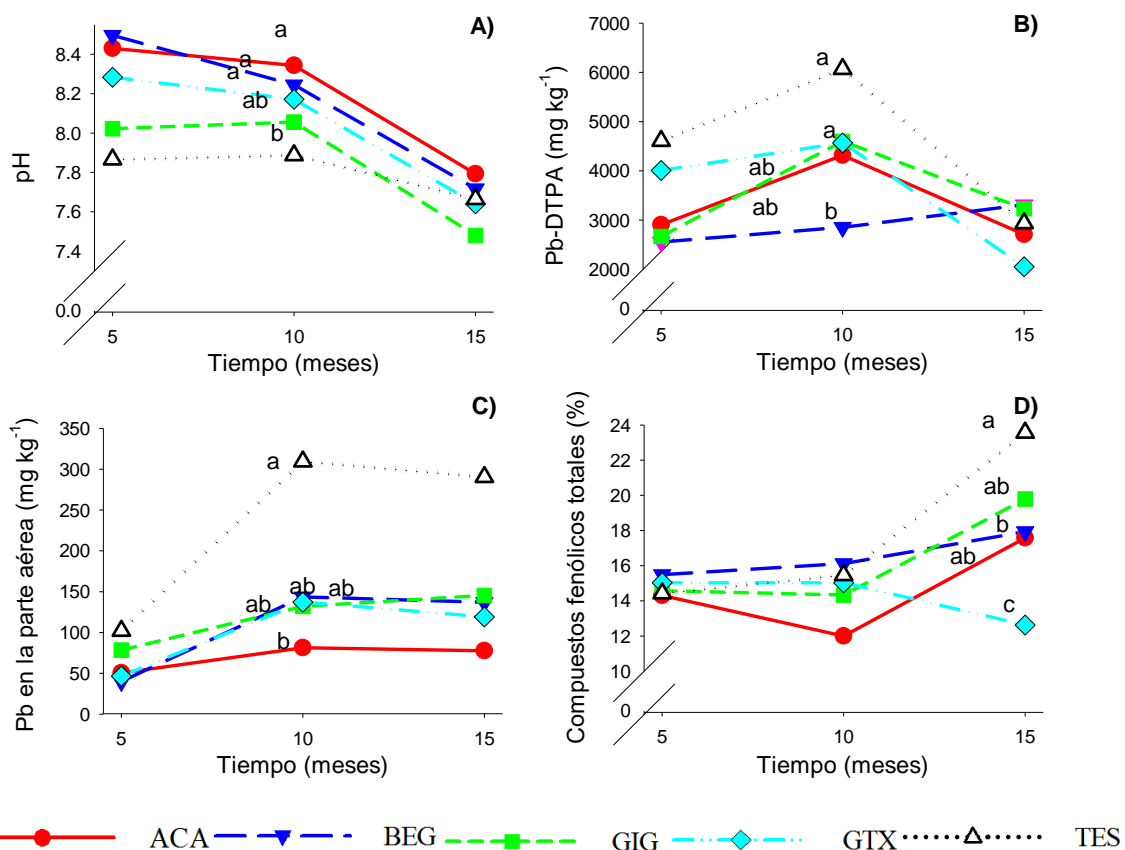


Figura 2.3. Efectos significativos de los hongos micorrízicos en suelo y plantas de *Ricinus communis* en un suelo contaminado con residuos de baterías ácidas de automóvil a través de 15 meses de evaluación. A) pH en el suelo rizosférico, B) concentración extractable de Pb en el suelo, C) concentración de Pb en la parte aérea de las plantas y D) contenido foliar de compuestos fenólicos totales. ACA: *Acaulospora* sp.; BEG: *F. mosseae* BEG-25; GIG: *Gi. gigantea*; GTX: *Glomus* sp. y TES: tratamiento sin inocular. Letras en cada figura indican diferencia significativa en el comportamiento de las variables mediante el análisis longitudinal (Pr < 0.05).

Mediante el análisis longitudinal se detectó que la rizósfera de las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 tuvo la menor concentración extractable de Pb en comparación con la rizósfera de las plantas sin inocular y las inoculadas con *Glomus* sp. (Figura 2.3B).

Específicamente y mediante el análisis transversal, se identificó que a los 10 meses de edad, la rizósfera de las plantas testigo tuvo 1.6 veces mayor concentración extractable de Pb que la rizósfera de las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 ($Pr < 0.05$). La disminución en la concentración extractable de Pb puede deberse a que *F. mosseae* BEG-25 contribuye a mayor inmovilización del Pb en el suelo rizosférico, en comparación con lo observado en la rizósfera de las plantas testigo y las inoculadas con los otros HMA. Al respecto, González-Chávez y Carrillo-González (2013) observaron que *F. mosseae* BEG-25 puede actuar como barrera que previene la acumulación de Pb en las plantas. Se sabe que los componentes de la pared celular de las especies de *Funneliformis* (antes *Glomus*) pueden presentar mayor contenido de quitina y glucanos que otras especies de HMA (Smith y Read, 2008). También, la diferencia entre *F. mosseae* BEG-25 y los otros HMA podría deberse a las características de la especie fúngica, tales como grosor de pared celular e hifas y longitud del micelio (Pagano *et al.*, 2010). La reducción en la concentración extractable de Pb en el suelo debido a la asociación entre *R. communis* y *F. mosseae* BEG-25 puede incrementar la tolerancia de las plantas y el potencial de fitoestabilización.

A los 10 y 15 meses de edad, las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. acumularon menor concentración de Pb en la parte aérea de las plantas, en comparación con las plantas testigo y las inoculadas con los otros HMA (Figura 2.3C). Las plantas testigo acumularon 3.4 veces mayor concentración foliar de Pb a los 10 y 15 meses de edad. Estas acumularon 300 mg kg^{-1} de Pb; valor límite máximo de toxicidad para este contaminante (Kabata-Pendias, 2011). La concentración de Pb en el follaje de *R. communis* inoculado con *Acaulospora* sp. no presentó cambio significativo en las diferentes edades de las plantas (5, 10 y 15 meses). Los resultados sugieren que este hongo podría tener el potencial para mantener baja la concentración de Pb en los tejidos de la planta. Algunos estudios demuestran menor concentración de Pb en las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas (Malcova *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2016). Mientras que otros estudios reportan altas concentraciones de Pb en las plantas micorrizadas, incluso hasta llegar a un nivel tóxico (Chen *et al.*, 2005; Punamiya *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010). Sin embargo, este estudio confirma que los HMA pueden evitar la traslocación del Pb en el suelo rizosférico hacia la parte aérea de las plantas de *R. communis*.

Las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. presentaron factor de acumulación (FA) de Pb (0.03) significativamente menor, que las plantas sin inocular (0.13). Mientras que los demás tratamientos no presentaron diferencia significativa con relación a las plantas testigo. La acumulación y la exclusión son dos estrategias básicas, mediante las cuales las especies vegetales responden a altas concentraciones de EPTs (Padmavathiamma y Li, 2007). En este caso *R. communis* se comportó como una planta exclusora de Pb. La baja traslocación de Pb en las plantas inoculadas sugiere ciertos mecanismos involucrados en evitar la traslocación del Pb hacia la parte aérea vegetal (Kaldorf *et al.*, 1999). En el presente trabajo no se analizó específicamente el mecanismo de los HMA en la acumulación de Pb. Sin embargo, algunos trabajos han mencionado que las estructuras fúngicas como: hifas, vesículas y arbusculos (Kaldorf *et al.*, 1999) tienen la capacidad de restringir la traslocación de Pb y funcionan como las barreras o filtros para evitar la acumulación de Pb en las plantas (Zhang *et al.*, 2010). Sin embargo, los mecanismos de traslocación en *R. communis* y los HMA aún no son claros (Wang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010).

No se encontró diferencia significativa en la concentración de P en la parte aérea de las plantas entre los tratamientos fúngicos. En contraste, otros autores (Yang *et al.*, 2016) reportaron mayor concentración de P en plantas leguminosas inoculadas en comparación con las plantas no inoculadas al aplicar 1,500 mg kg⁻¹ de Pb en el suelo. La diferencia entre el trabajo de Yang *et al.* (2016) y el presente estudio podría deberse a las concentraciones excesivamente altas de Pb y Cu, además de las propiedades del suelo.

La concentración de compuestos fenólicos totales fue mayor en las hojas de ricino de las plantas testigo en comparación con la concentración en las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp. (Figura 2.3D). Las plantas inoculadas con *Glomus* sp. disminuyeron la concentración de compuestos fenólicos totales (de 15% a 13%) durante 15 meses. Mientras que en las plantas testigo, la concentración de compuestos fenólicos totales incrementó de 15% a 24% durante 15 meses. Los HMA inducen cambios en el metabolismo de las plantas como un mecanismo para mejorar la defensa del estrés oxidativo por EPTs (Morandi, 1996). Sin embargo, existen resultados opuestos sobre la

respuesta de los HMA en la acumulación o disminución de los compuestos fenólicos en las plantas (Lenoir *et al.*, 2016). Pazoki (2015) observó mayor concentración de compuestos fenólicos en las plantas micorrizadas, en comparación con la concentración de las plantas sin inocular en presencia de Pb (900 mg kg⁻¹). En contraste, Hazzoumi *et al.* (2015) mencionaron que el contenido de compuestos fenólicos totales incrementó en plantas no micorrizadas de *Ocimum gratissimum*, en comparación con plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices* sin contaminación de EPTs. En el presente estudio la reducción en el contenido de compuestos fenólicos sugiere que los HMA podrían proteger a la planta mediante otro mecanismo de defensa para disminuir al estrés por Pb; por ejemplo, mecanismos de sorción y quelación en la rizósfera. Mientras que en las plantas testigo, el incremento de la concentración de los compuestos fenólicos podría activarse para secuestrar a EPTs (Grandmaison *et al.*, 1993; Olivares, 2003).

Cabe mencionar que 100% de las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp., *F. mosseae* BEG-25 y *Gi. gigantea* sobrevivieron. Mientras que, las plantas inoculadas con *Glomus* sp sobrevivieron 86% y de las plantas sin tratamiento fúngico (testigo) solo 57% sobrevivieron a los 13 meses de edad.

En la Figura 2.4 se muestra la respuesta de la inoculación de las plantas de ricino en el peso seco de las semillas y el contenido de aceite en las semillas de ricino. Debido a que, la presencia de los frutos se obtuvo solo en el último muestreo, estos datos se analizaron por medio del análisis transversal y no por el análisis longitudinal. Las semillas de las plantas testigo presentaron menor peso seco, que el peso seco de las semillas en las plantas inoculadas con HMA (Figura 2.4A). Esta diferencia no se debió al tamaño de las semillas, sino a la mayor producción de semilla vacía o inmadura en el tratamiento testigo. Lo cual podría deberse al mal desarrollo del endospermo en plantas no inoculadas. Varios autores han descrito que esta alteración en las semillas puede deberse a la inducción de estrés oxidativo, daño directo celular causado por EPTs o escasez de energía para el desarrollo adecuado de las mismas (Briat y Lebrun, 1999). Por ejemplo, en Polonia, Kwiatkowska e Izmailow (2014) mencionaron que EPTs procedentes de residuos de mina afectaron el embrión y el endospermo de las semillas de *Cardaminopsis arenosa*. Así mismo, se reportó

la degeneración o estructura atípica del endospermo en algunas semillas de la planta viborera (*Echium vulgare*) al crecer en un sitio contaminado de Cu en Polonia (Biskup y Izmailow, 2004). Estos autores señalaron que el exceso de Cu afectó negativamente la embriogénesis y el desarrollo del endospermo. Los resultados sugieren que los HMA podrían proteger el desarrollo de las semillas de las plantas que crecen en un sitio altamente contaminado de Pb, contribuyendo al proceso de reproducción de las plantas en condiciones de estrés. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para confirmar dicha hipótesis.

El porcentaje de aceite en las semillas de ricino fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en las plantas inoculadas con *Gi. gigantea*, en comparación con el aceite de la planta testigo (Figura 2.4B). Aparentemente, no existen registros previos que indiquen que los HMA incrementan el porcentaje de aceite de ricino. Sin embargo, Heidari *et al.* (2014) mencionaron que *F. mosseae* incrementó 41% el contenido de aceite en las semillas de girasol, en comparación, con el contenido de aceite en las plantas testigo (38%) que crecieron sin contaminación por EPTs en condiciones de campo durante un año. Así mismo, Soleimanzadeh (2010) observó que *F. mosseae*, *Glomus etunicatum* y *R. irregularis* incrementaron la producción de aceite en semillas de girasol al crecer en diferente concentración de P en el suelo y sin contaminación de EPTs.

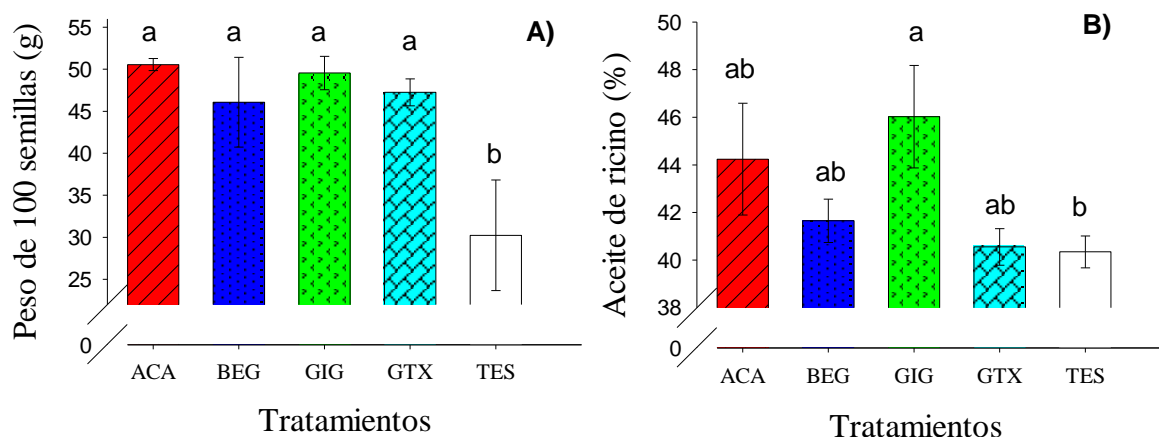


Figura 2.4. Efecto de cinco hongos micorrízicos en la producción de aceite y peso de semillas de *Ricinus communis* a los 15 meses de crecimiento en un suelo contaminado con residuo de baterías de automóvil. A) Peso seco de 100 semillas y B) contenido de aceite de ricino (%). ACA: *Acaulospora* sp.; BEG: *F. mosseae* BEG-25; GIG: *Gi. gigantea*; GTX: *Glomus* sp. y TES: tratamiento sin inocular. Letras en cada figura muestran diferencia significativa según Tukey ($p < 0.05$).

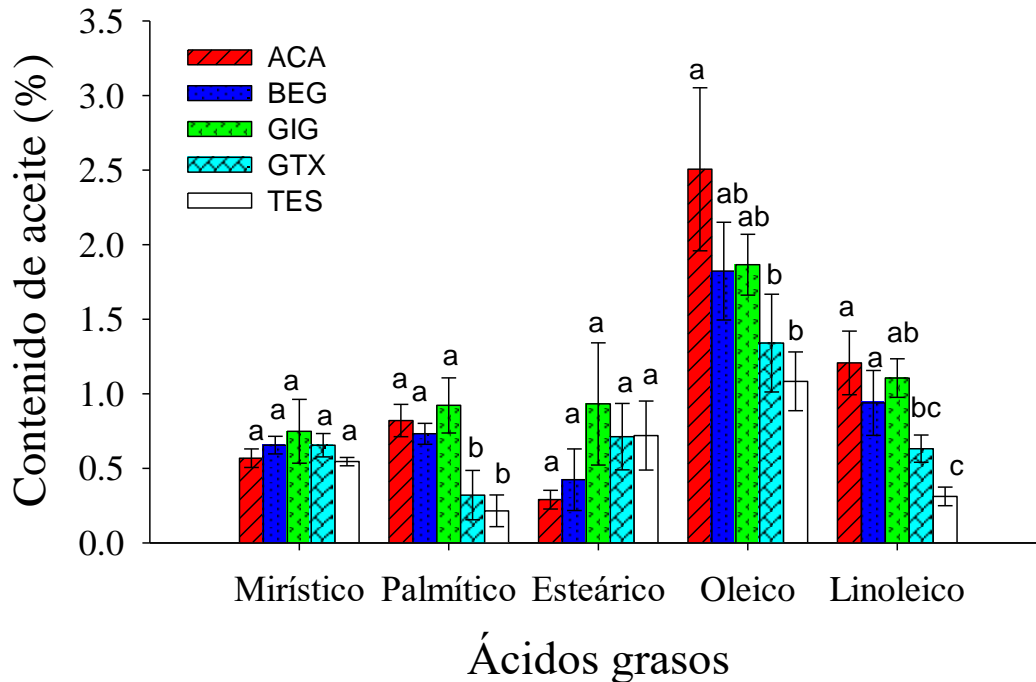


Figura 2.5. Influencia de hongos micorrizicos en el contenido de ácidos grasos de las semillas de *Ricinus communis* a los 15 meses de crecimiento en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil. ACA: *Acaulospora* sp.; BEG: *F. mosseae* BEG-25; GIG: *Gi. gigantea*; GTX: *Glomus* sp. y TES: tratamiento sin inocular. Letras en cada ácido graso muestran diferencia significativa según la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En el presente estudio, el incremento significativo en el porcentaje de aceite en las semillas de ricino en asociación con *Gi. gigantea* amplía el potencial de la aplicación de los HMA para la obtención de productos industriales. Estos resultados adquieren mayor importancia, ya que en el aceite de las semillas de ricino no se detectó Pb, ni Cu, solo se cuantificó Fe (39 mg kg^{-1}). Mientras que en la torta se detectó Fe (44 mg kg^{-1}) y Zn (56 mg kg^{-1}). La concentración de Zn fue menor que el valor reportado por González-Chávez *et al.*, (2013). Estos autores cuantificaron 250 mg kg^{-1} para la torta de la misma accesión de *R. communis* que crecen naturalmente en sitios contaminados con residuos de mina. En el caso del Fe no se encontraron trabajos que mencionen la concentración de Fe en la torta, ni en aceite, por lo que no es posible hacer una comparación adecuada. Sin embargo, para tener una idea general sobre las concentraciones normales para Fe son de 18 a 1000 mg kg^{-1} en plantas (Kabata-Pendias 2011). De forma similar, en abonos orgánicos en la torta (EPA, 1999), las concentraciones máximas permitidas son 697 mg kg^{-1} de Zn y 500 mg kg^{-1} de Fe. La

concentración de Fe y Zn (torta o aceite) no sobrepasa estos valores. Lo cual sugiere su uso como bioproductos seguros, por ejemplo fertilizantes o bioabsorbentes en el caso de la torta y biocombustibles en el caso del aceite (González-Chávez *et al.*, 2013).

La composición de ácidos grasos extraídos de las semillas de *R communis* se muestran en la Figura 2.5. El porcentaje de ácidos grasos fue similar a los datos publicados para el aceite de ricino de plantas que se desarrollaron en residuos de mina y EPTs (González-Chávez *et al.*, 2015). También la composición fue similar a la de los ácidos grasos en el aceite de las semillas de las plantas que crecen en sitios no contaminados (Anastasia *et al.*, 2015). Los resultados muestran que ciertos HMA promovieron mayor contenido de algunos ácidos grasos como el palmítico, oleico y linoleico. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa en el contenido de ácido ricinoleico, esteárico y mirístico en las semillas de *R. communis*.

El contenido de ácido palmítico y linoleico fue mayor en las semillas de las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp., *F. mosseae* BEG-25 y *Gi. gigantea* que el contenido de éste en las plantas inoculadas con *Glomus* sp. y plantas sin inocular. Sin embargo, estos dos últimos tratamientos tuvieron menor concentración de ácido oleico en comparación con la concentración de este ácido graso de las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25. Los resultados en estudios previos (Abd-Allah *et al.*, 2015) demuestran que los HMA pueden mitigar el efecto negativo de Cd en la concentración de ácido palmitóico, oleico y linoleico en las semillas de las plantas de girasol. Kaplan *et al.* (2015) reportaron que los HMA incrementaron las concentraciones de ácido oleico y linolénico en las semillas de *Linum usitatissimum* al aplicar 15 mg kg⁻¹ de Cd en solución hidropónica semanalmente. Sin embargo, el contenido de aceite no se puede comparar debido a que depende de las especies vegetales.

La composición de los ácidos grasos en el aceite de ricino influye en la calidad de los productos industriales como el biodiésel (Lavanya *et al.*, 2012). Las características químicas (como el índice de saponificación e índice de yodo) de los aceites se pueden estimar empíricamente. En particular, los compuestos de cadena larga confieren índice de

saponificación bajo, debido al menor número de grupos funcionales carboxílicos. El índice de yodo es una expresión directa del grado de insaturación, lo cual mejora la calidad del biodiesel. En el presente estudio, las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. tuvieron mayor calidad de aceite para la producción del biodiésel, debido al incremento de la concentración del ácido oleico y linoleico en comparación a estos ácidos grasos de las plantas sin inocular. Al respecto, el mayor contenido de ácido oleico y linoleico es deseable porque mejora las propiedades del biocombustible: calidad de ignición, punto de turbidez y el valor calorífico (Knothe, 2008).

2.5.8 Correlación entre variables

2.5.8.1 Correlación entre las características del suelo y la concentración de Pb en las plantas

La correlación entre las características del suelo y Pb en las plantas se muestra en el Cuadro 2.14. En el presente trabajo se encontraron diferentes correlaciones entre variables. Este análisis detectó la correlación positiva entre la concentración extractable de Pb y la concentración total de este EPT en el suelo rizosférico ($r^2=0.98$; $\alpha=0.0001$). Esta última concentración presentó correlación positiva con la concentración foliar de Pb ($r^2=0.87$; $\alpha=0.0024$). Esto concuerda con Bohn *et al.* (1985) quienes reportaron que conforme aumenta la concentración de EPTs en el suelo incrementa la disponibilidad y la acumulación de los mismos para las plantas. Así mismo, la concentración total de Cu y Zn en el suelo presentó correlación positiva ($r^2=0.86$ y 0.90) con la concentración extractable de estos EPTs en el suelo rizosférico ($\alpha=0.0001$ y 0.0009).

La concentración extractable de Pb se correlacionó positivamente con la MO en el suelo rizosférico ($r^2=0.90$; $\alpha=0.0009$; Cuadro 2.14). El Pb puede ser retenido en la MO en forma de complejos insolubles en la fase sólida del suelo, ésta es una de las variables con más influencia en el proceso de adsorción o desorción de este EPT (Strawn y Sparks, 2000; Sparks, 2005). La quelación del Pb por la MO se debe al alto contenido de grupos funcionales que poseen oxígeno, tales como: $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ fenólicos y grupos $\text{C}=\text{O}$, que confieren a los ácidos húmicos y fúlvicos gran capacidad de formación de complejos con EPTs (Kabata-Pendias, 1992).

La concentración extractable de Pb tuvo relación positiva de 0.95 con la CE en el suelo rizosférico ($\alpha=0.0001$) (Cuadro 2.14). Se sabe que la presencia de sales o de minerales pueden formar compuestos como el PbSO_4 , que en ciertas condiciones ambientales pueden liberar iones a la solución del suelo y causar así el aumento de la CE (Sparks, 2005). En el presente estudio, la concentración extractable de Pb presentó relación positiva con la concentración de SO_4 en el suelo rizosférico ($r^2=0.95$; $\alpha=0.0001$). Así mismo, la CE tuvo correlación positiva de 0.99 y 0.92 con la concentración de SO_4 y Na en el suelo ($\alpha=0.0001$ y $\alpha=0.0004$, respectivamente). La concentración de SO_4 y Na presentaron relación positiva de 0.96 ($\alpha=0.0001$).

Cuadro 2.14. Correlaciones de Pearson entre las características del suelo y la concentración de Pb en las plantas.

Relación	Coefficiente de correlación	Pr>F
Pb total - Pb extractable	0.98	0.0001
Pb total- Pb foliar en las plantas	0.87	0.0024
Pb total- Materia orgánica	0.80	0.0094
Pb total- Conductividad eléctrica	0.95	0.0001
Pb extractable- Conductividad eléctrica	0.95	0.0001
Pb extractable- Materia orgánica	0.90	0.0009
Pb extractable- SO_4 soluble	0.95	0.0001
Pb extractable- Na soluble	0.90	0.0010
Cu total- Cu extractable	0.86	0.0030
Na soluble- Conductividad eléctrica	0.92	0.0004
SO_4 soluble- Conductividad eléctrica	0.99	0.0001
SO_4 soluble- Pb foliar en las plantas	0.94	0.0002
Na soluble- SO_4 soluble	0.96	0.0001
Zn total- Zn extractable	0.90	0.0009

Coefficiente de correlación > 0.80, significancia $\alpha=0.05$.

2.5.8.2 Correlación entre la agroproduktividad de las plantas y las variables del suelo rizosférico

La concentración de Pb en la parte aérea de *R. communis* tuvo relación negativa con la altura de la planta ($r^2=-0.83$; $\alpha=0.0061$), la longitud de los racimos ($r^2=-0.92$; $\alpha=0.0004$) y el peso seco de las semillas ($r^2=-0.96$; $\alpha=0.0001$; Cuadro 2.15). Así mismo, la concentración extractable de Pb en el suelo se correlacionó negativamente con la longitud de racimo principal ($r^2=-0.99$; $\alpha=0.0001$) y el número de racimos ($r^2=-0.97$; $\alpha=0.0001$). En este sentido, Ananthi *et al.* (2012) mencionaron que la altura de *R. communis* en condiciones de invernadero disminuyó por la exposición durante tres meses a 400 mg kg^{-1} de Pb. Sin embargo, no se encontraron registros que informen sobre el efecto de Pb en la longitud de racimo principal o el número de racimos en *R. communis*. La mayoría de trabajos se realizaron, sin llegar a la producción de semillas en condiciones de laboratorio (Romeiro *et al.*, 2006; Ananthi *et al.*, 2012) o a nivel invernadero (Gomes *et al.*, 2014). La correlación negativa entre la agroproduktividad de las plantas y el Pb podría deberse a la acumulación de Pb en la parte aérea vegetal o por los efectos negativos que produce este contaminante en las especies vegetales (Chatterjee *et al.*, 2004; Pourrut *et al.*, 2011). Es importante mencionar que los cambios observados en *R. communis* ante la exposición de Pb durante 15 meses, podrían diferir a la exposición en un periodo mayor.

La concentración de Pb en la parte aérea de las plantas presentó correlación positiva con la concentración soluble de SO_4 ($r^2=0.94$; $\alpha=0.0002$) y Na en el suelo rizosférico ($r^2=0.90$; $\alpha=0.0010$) (Cuadro 2.15). Al respecto, no se encontraron registros que mencionen su relación entre estas variables. Sin embargo, el Pb podría traslocarse hacia la parte aérea de las plantas en forma de PbSO_4 ; lo cual fue observado por Sharma *et al.* (2004) mediante microscopía electrónica de transmisión.

La concentración soluble de Na en el suelo rizosférico se relacionó negativamente con la altura de las plantas ($r^2=-0.90$; $\alpha=0.0010$), el número y longitud de racimos ($r^2=-0.94$; $\alpha=0.0001$ y -0.91 ; $\alpha=0.0007$) (Cuadro 2.15). Así mismo, la concentración de SO_4 en el suelo rizosférico presentó correlación negativa con el número de racimos ($r^2=-0.92$; $\alpha=0.0004$). Resultados anteriores (Presotto *et al.*, 2016) demostraron que la altura de las

plantas de ricino en condiciones hidropónicas disminuyó por la aplicación de 100 mM L⁻¹ de Na durante 31 días. Lo cual podría indicar que tanto el Na como el SO₄ influyeron negativamente en el crecimiento y rendimiento de las plantas (Gopal y Rizvi, 2008; Kovalchuk *et al.*, 2005; Amzallag, 2005). Sin embargo, la concentración soluble de Na no tuvo relación significativa con el porcentaje de aceite, ni con el contenido de ácidos grasos en el aceite.

Cuadro 2.15. Correlaciones de Pearson entre la agroproductividad de las plantas, el aceite de ricino, ácidos grasos y el suelo.

Relación	Coefficiente de correlación	Pr>F
Altura de las plantas- Pb foliar en las plantas	-0.83	0.0061
Altura de las plantas- Na soluble en suelo	-0.90	0.0010
Altura de las plantas-Clorofila a en hoja	0.99	0.0001
Altura de la planta-Clorofila total en hoja	0.98	0.0001
Número de racimos- Pb foliar en las plantas	-0.88	0.0018
Número de racimos- Na soluble en suelo	-0.94	0.0001
Número de racimos- Pb extractable en suelo	-0.97	0.0001
Número de racimos- Azúcares solubles totales en hoja	0.89	0.0013
Número de racimos- SO ₄ soluble en suelo	-0.92	0.0004
Número de racimos- Pb total en suelo	-0.90	0.0011
Longitud de racimo- Pb total en suelo	-0.98	0.0001
Longitud de racimo- Pb extractable en suelo	-0.99	0.0001
Longitud de racimo- Pb foliar en las plantas	-0.92	0.0004
Longitud de racimo- Na soluble en suelo	-0.91	0.0007
Longitud de racimo- Azúcares solubles totales en hoja	0.97	0.0001
Longitud de racimo- SO ₄ soluble en suelo	-0.96	0.0001
Rendimiento de semillas- Pb foliar en las plantas	-0.96	0.0001
Aceite de ricino- Cu soluble en suelo	0.83	0.0051
Ácido linoleico en aceite- Cu extractable en suelo	-0.94	0.0002
Ácido oleico en aceite- Cu extractable en suelo	-0.91	0.0007
Ácido palmítico en aceite- Cu extractable en suelo	-0.92	0.0005

Coefficiente de correlación>0.80, significancia $\alpha=0.05$.

El porcentaje de aceite en las semillas presentó correlación negativa con la concentración de Cu en la planta ($r^2=-0.93$; $\alpha=0.0003$) (Cuadro 2.15). Así mismo, el porcentaje de ácido oleico y linoleico procedente el aceite de ricino se relacionó negativamente con la concentración extractable de Cu ($r^2=-0.91$; $\alpha=0.0007$ y $r^2=-0.94$; $\alpha=0.0002$ respectivamente). En este sentido, Zhang *et al.* (2015) informaron que en las semillas de *Paeonia ostii*, la concentración de Cu en el suelo (84.68 mg kg^{-1}) fue el factor importante que influyó negativamente en el porcentaje de ácido linoleico y el contenido de otros ácidos grasos insaturados.

2.5.8.3 Correlación entre la respuesta al estrés oxidativo y las variables del suelo rizosférico

La concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico se relacionó negativamente con la concentración de azúcares solubles totales en las hojas de las plantas ($r^2=-0.95$; $\alpha=0.0001$; Cuadro 2.16). Lo que implica que el incremento de la concentración de Pb, puede afectar el sistema de protección de la planta. Además, estos compuestos osmoprotectores tuvieron relación negativa con la concentración de Pb en la parte aérea de las plantas ($r^2=-0.93$; $\alpha=0.0003$). Al respecto, no se encontraron registros de la relación entre la concentración extractable de Pb y la concentración de los azúcares en las plantas. Sin embargo, se sabe que la concentración de azúcares en la hojas de las plantas disminuye debido a la presencia de Pb (Bhardwaj *et al.*, 2009; Aldoobie y Beltagi, 2013).

La concentración soluble de Pb en el suelo rizosférico se relacionó negativamente con la concentración de los compuestos fenólicos totales en las hojas de *R. communis* ($r^2=-0.93$; $\alpha=0.0003$) (Cuadro 2.16). Estos resultados concuerdan con los de Wang *et al.* (2011), quienes reportan que en *Vallisneria natans*, la concentración de compuestos fenólicos totales en hojas se correlacionó negativamente con la aplicación de $100 \mu\text{M L}^{-1}$ de Pb. Esta disminución podría atribuirse al consumo de los compuestos fenólicos en la desintoxicación de los radicales libres (Olivares, 2003). Paradójicamente, en el presente estudio la concentración de compuestos fenólicos totales tuvo correlación positiva con la concentración de Pb en la parte aérea de las plantas ($r^2=0.82$; $\alpha=0.0071$). Lo cual podría

indicar que los compuestos fenólicos pueden secuestrar al Pb en las hojas de ricino (Olivares, 2003).

Existió correlación negativa entre la concentración de prolina y la actividad de SOD en las hojas de las plantas ($r^2=-0.98$; $\alpha=0.0001$; Cuadro 2.16). El contenido de prolina tuvo correlación negativa con la concentración soluble de K en el suelo rizosférico ($r^2=-0.89$; $\alpha=0.0013$), mientras que la actividad de la SOD presentó relación positiva con el K en el suelo ($r^2=0.90$; $\alpha=0.0009$). Al respecto, se sabe que la actividad de la enzima SOD y la concentración de prolina en las plantas de arroz se relacionaron negativamente; esta respuesta confiere tolerancia a salinidad y estrés hídrico (Dai *et al.*, 2006; Lum *et al.*, 2014).

Cuadro 2.16. Correlaciones de Pearson entre la respuesta bioquímica, las plantas y el suelo.

Relación	Coefficiente de correlación	Pr>F
Azúcares solubles totales en hoja- Pb total en suelo	-0.97	0.0001
Azúcares solubles totales en hoja- Pb extractable en suelo	-0.96	0.0001
Azúcares solubles totales en hoja- Pb foliar en las plantas	-0.93	0.0003
Azúcares solubles totales en hoja- Cu extractable en suelo	-0.90	0.0010
Compuestos fenólicos totales - Pb soluble en suelo	-0.93	0.0003
Compuestos fenólicos totales - Pb foliar en las plantas	0.82	0.0071
Prolina en hoja de las plantas- K soluble en suelo	-0.89	0.0013
SOD en hoja de las plantas- SO ₄ soluble en suelo	0.90	0.0009
SOD en hoja de las plantas- Prolina en hoja de las plantas	-0.98	0.0001

Coefficiente de correlación>0.80, significancia $\alpha=0.05$.

2.5.8.4 Correlación entre los HMA, las variables del suelo rizosférico y en las plantas

La correlación entre los HMA, las variables del suelo rizosférico y en las plantas se muestra en el Cuadro 2.17. Se observó correlación negativa entre el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de las plantas y el contenido de Pb en la parte aérea de *R. communis* ($r^2=-0.97$; $\alpha=0.0001$) (Cuadro 2.17). La colonización micorrízica en las raíces de

las plantas y la concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico se relacionaron negativamente ($r^2=-0.87$; $\alpha=0.0001$). Los efectos negativos de los EPTs en la colonización micorrízica fueron previamente descritos por Yang et al., (2015). Quienes reportaron que la colonización micorrízica en las raíces de *Robinia pseudoacacia* disminuyó de 46% a 18% al aplicar 2,000 mg kg⁻¹ de Pb.

Cuadro 2.17. Correlaciones de Pearson entre la respuesta de los HMA, las plantas y el suelo.

Relación	Coefficiente de correlación	Pr>F
Colonización micorrízica- Pb total en suelo	-0.82	0.0064
Colonización micorrízica- Pb extractable en suelo	-0.87	0.0025
Colonización micorrízica- Pb foliar en las plantas	-0.97	0.0001
Colonización micorrízica- Na soluble en suelo	-0.97	0.0001
Colonización micorrízica- SO ₄ soluble en suelo	-0.96	0.0001
Colonización micorrízica- Altura de las plantas	0.87	0.0026
Hifas en las raíces- Pb extractable en suelo	-0.95	0.0001
Hifas en las raíces- Pb foliar en las plantas	-0.97	0.0001
Hifas en las raíces- Cu extractable en suelo	-0.87	0.0020
Hifas en las raíces- Na soluble en suelo	-0.96	0.0001
Vesículas en las raíces- Compuestos fenólicos totales	-0.97	0.0001

Coefficiente de correlación>0.80, significancia $\alpha=0.05$.

La colonización micorrízica en las raíces de las plantas tuvo correlación negativa con la concentración soluble de Na ($r^2=-0.97$; $\alpha=0.0001$) y SO₄ ($r^2=-0.96$; $\alpha=0.0001$) (Cuadro 2.17). El porcentaje de hifas en las raíces de las plantas mostraron correlación negativa con la concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico ($r^2=-0.94$; $\alpha=0.0001$). Se sabe que tanto los EPTs como las sales afectan a la estructura del ADN, de los lípidos de membrana y de muchas proteínas (Leyval *et al.*, 1997; Porcel *et al.*, 2004). Sin embargo, no se tienen registros de su efecto en conjunto a altas concentraciones.

El porcentaje de vesículas de HMA en las raíces de las plantas presentaron relación negativa de -0.97 ($\alpha=0.0001$) con la concentración de compuestos fenólicos totales en las

plantas de ricino (Cuadro 2.17). Al respecto, no se encontraron registros que mencionen la relación entre el porcentaje de vesículas de HMA en las raíces de las plantas y la concentración de compuestos fenólicos.

2.5.9 Análisis de componentes principales

La dispersión del testigo y los cuatro tratamientos con inoculación representado en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales explicaron 94% de la variación global acumulada para las 13 variables analizadas en relación a las características del suelo rizosférico, plantas y HMA (Cuadro 2.18). El primer componente principal (CP1) explicó 65% de la variación global y estuvo más asociado con el porcentaje de colonización, la concentración extractable de Pb en el suelo, la concentración de Pb en la parte aérea vegetal y el peso seco de las semillas (Figura 2.6). El segundo componente (CP2) expresó 19% de la variación total y se asoció con el pH del suelo rizosférico, el aceite de las semillas de la planta, además del porcentaje del aceite de las semillas, el contenido de ácido linoleico y palmítico. El tercer componente (CP3) explicó 10% de la variación global y se definió por la respuesta bioquímica como la concentración de azúcares solubles totales y los compuestos fenólicos totales.

De acuerdo a la distribución espacial de los tres primeros componentes se distinguieron cuatro grupos de respuesta (Figura 2.6). El grupo (Grupo I) compuesto por las plantas testigo que se separó de los demás tratamientos fúngicos a una distancia media entre conglomerados de 1.4 (Figura 2.7). Éste se caracterizó por tener alta concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico y alta concentración de Pb en la parte aérea vegetal. Lo cual concuerda con la correlación entre sí ($r^2=0.89$; $\alpha=0.0013$). En estas condiciones tan altas de contaminación, 43% de las plantas testigo murieron a los 13 meses de edad. La contaminación afectó en forma negativa el desarrollo y crecimiento de las plantas testigo. Además, *R. communis* sin inoculación micorrízica presentaron bajo porcentaje de colonización micorrízica por cepas nativas en las raíces y bajo peso de semillas.

El Grupo II caracterizado por *Glomus* sp. se separó de los demás tratamientos a una distancia de 0.8. Este conglomerado, se dividió de acuerdo a la mayor frecuencia de colonización micorrízica en las raíces de las plantas y baja concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de *R. communis*, en comparación a estas variables en el tratamiento testigo. Además, este hongo proviene de un suelo contaminado con residuos de mina y podría tener menor efecto en la tolerancia a Pb en las plantas al crecer en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil. En este grupo no se observó efecto benéfico en las plantas hospederas.

Cuadro 2.18. Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable en tres componentes principales.

Variable	CP1	CP2	CP3
pH en el suelo rizosférico	0.21	-0.44	0.16
CE en el suelo rizosférico	-0.29	0.24	-0.07
Pb extractable en el suelo rizosférico	-0.31	0.16	-0.09
Altura de las plantas	0.28	0.09	-0.25
Pb en las plantas	-0.32	0.11	0.12
Azúcares solubles totales en hojas	0.24	-0.20	0.48
Colonización micorrízica	0.30	-0.10	-0.29
Compuestos fenólicos totales en hojas	-0.14	0.32	0.54
Ácido palmítico	0.28	0.30	0.26
Ácido oleico en el aceite de ricino	0.29	0.02	0.27
Ácido linoleico en el aceite de ricino	0.21	0.39	0.16
Aceite en las semillas	0.17	0.53	0.00
Peso de semillas	0.30	0.14	-0.27
Valores propios (%)	65	19	10
Proporción acumulada (%)	65	84	94

CP: componentes principales. *Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de cada componente principal.

El Grupo III representado por el tratamiento de *Gi. gigantea* se localizó a una distancia de 0.9. Este grupo se caracterizó porque las semillas de las plantas presentaron mayor

porcentaje de aceite de ricino (51%), en comparación con los otros tratamientos. Además, el aceite de ricino presentó mayor porcentaje de ácido palmítico, así como ácido linoleico comparados con las plantas testigo. La familia Gigasporaceae difiere de otras familias de HMA en la arquitectura de las hifas y los patrones de crecimiento (Redecker y Raab, 2006). Por lo cual este grupo podría tener diferentes respuestas de tolerancia a Pb y Cu en comparación con los otros grupos.

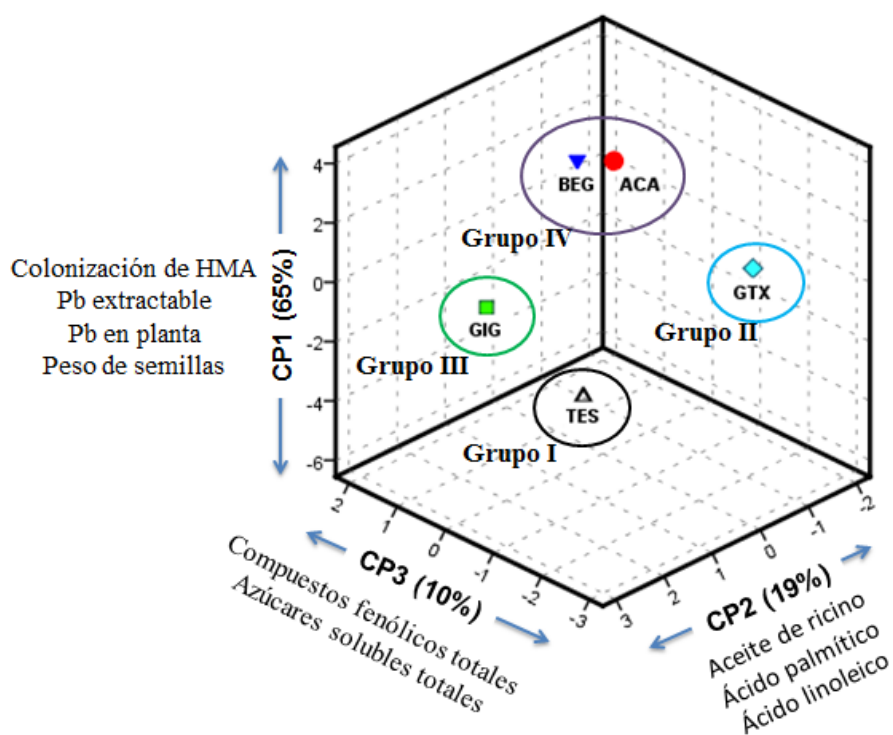


Figura 2.6. Análisis de componentes principales del efecto de la inoculación en trece variables del sistema suelo-planta bajo estudio. CP: Componente principal; ACA: *Acaulospora* sp.; BEG: *F. mosseae* BEG-25; GIG: *Gi. gigantea*; GTX: *Glomus* sp. y TES: tratamiento sin inocular.

El Grupo IV se conformado por *Acaulospora* sp y *F. mosseae* BEG-25 se separó a una distancia de 0.7. Éste se caracterizó por los efectos benéficos a *R. communis* como fue la baja concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico, así como, baja concentración de este EPT en la parte aérea de las plantas. Este grupo presentó alta concentración de azúcares solubles totales en las hojas de *R. communis*. Además las semillas presentaron mayor peso, así como, mayor concentración de ácido palmítico y linoleico en comparación con el aceite de las semillas en las plantas testigo. Por lo que, *Acaulospora* sp y *F. mosseae*

BEG-25 presentaron mayor potencial para la fitorremediación de Pb proveniente de residuos de baterías de automóvil. Estos hongos tienen el potencial para estabilizar Pb en suelo rizosférico, disminuir el estrés en la planta, promover la producción de aceite y peso de semilla.

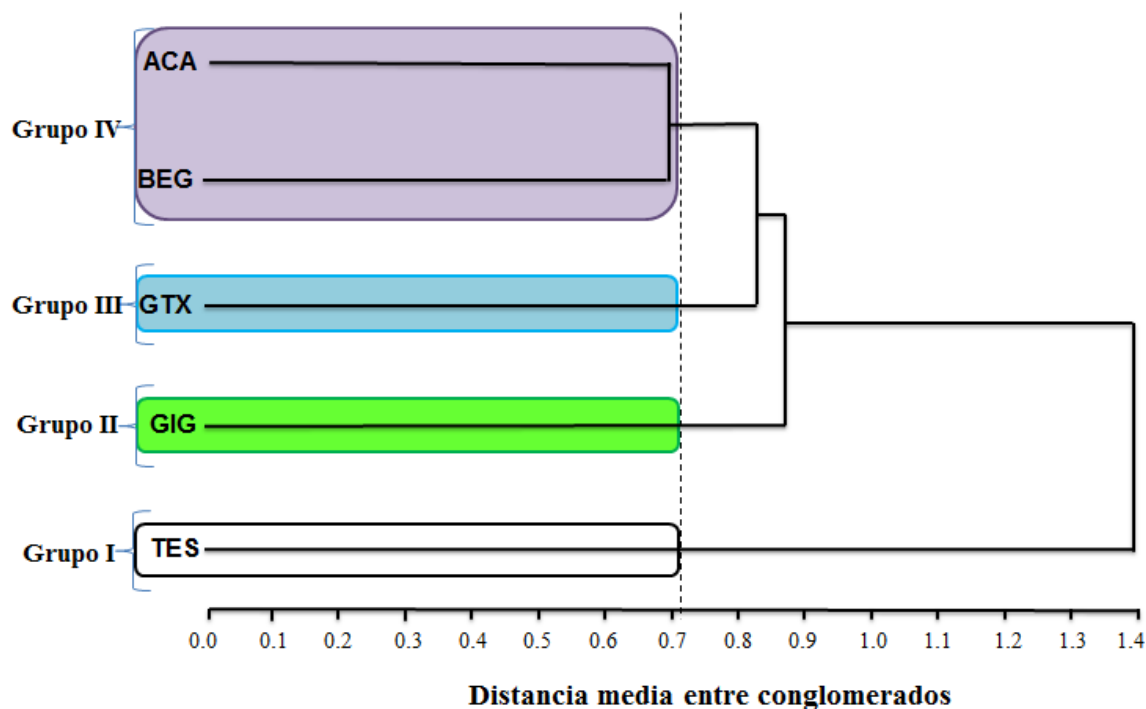


Figura 2.7. Dendrograma de los diferentes tratamientos fúngicos inoculados en plantas de *Ricinus communis* en un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil. ACA: *Acaulospora* sp.; BEG: *F. mosseae* BEG-25; GIG: *Gi. gigantea*; GTX: *Glomus* sp. y TES: tratamiento sin inocular; G: Grupos.

2.6 CONTRASTE DE HIPÓTESIS

La hipótesis general fue: *Funneliformis mosseae* BEG-25 evitará el daño de la exposición a Pb en *Ricinus communis*. Esta hipótesis se acepta debido a que *F. mosseae* BEG-25 redujo la concentración extractable de Pb en el suelo rizosférico, incrementó el peso seco de las semillas, porcentaje de aceite de ricino, así como, ácido palmítico y linoleico al igual que *Acaulospora* sp. También, estos hongos disminuyeron el pH del suelo rizosférico. La primera hipótesis particular que fue: *Funneliformis mosseae* BEG-25 incrementará la altura de las plantas de ricino en el sitio bajo estudio, se rechaza. En esta investigación ningún tratamiento tuvo efecto significativo sobre la altura de las plantas.

La segunda hipótesis particular que fue: *Funneliformis mosseae* BEG-25 disminuirá los compuestos fenólicos en las hojas de *R. communis*. Por lo tanto, esta hipótesis se acepta. Debido a que tanto *F. mosseae* BEG-25 como *Glomus* sp. disminuyeron la concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de las plantas hospederas lo cual podría deberse a la reducción del estrés oxidativo del Pb.

La tercera hipótesis fue: *Acaulospora* sp. disminuirá la acumulación de Pb en la parte área de las plantas de ricino. Esta hipótesis se acepta. Este hongo presentó menor acumulación de Pb en la parte aérea de las plantas en comparación con la plantas testigo. Lo cual sugiere el secuestro o la acumulación de Pb en las raíces de las plantas.

La cuarta hipótesis fue: *Funneliformis mosseae* BEG-25 en asociación con *Ricinus communis* estabilizará el Pb en el sitio de estudio. Por lo que esta hipótesis se acepta. Este hongo en asociación con las plantas de ricino disminuyó la concentración de Pb extractable en el suelo rizosférico contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Sobre la quinta hipótesis que fue: *Funneliformis mosseae* BEG-25 incrementará el porcentaje de ácido linoleico en el aceite de ricino. Esta hipótesis se acepta. Este hongo incrementó no solo el porcentaje de ácido linoleico, sino también el ácido palmítico en el aceite de las semillas de las plantas en comparación a las plantas sin inocular. Sin embargo, *Acaulospora* sp. incrementó el porcentaje de ácido palmítico, linoleico y oleico.

2.7 CONCLUSIONES

El suelo contaminado con residuos del reciclaje de baterías de automóvil presentó altas concentraciones de dos elementos potencialmente tóxicos (EPTs), principalmente Pb (total, extractable y soluble) y Cu (total). El suelo fue altamente salino con altas concentraciones solubles de Na y SO₄, además, tuvo pH alcalino y presentó porcentaje pobre de materia orgánica. Debido a esto se propuso el uso de la fitorremediación para disminuir la contaminación en este tipo de suelos mediante el uso de *Ricinus communis* y hongos micorrízico arbusculares (HMA). Los HMA tuvieron diferentes comportamientos en la protección de las plantas contra la toxicidad de EPTs, por lo que no puede generalizarse.

Sin embargo, los efectos favorables de *Acaulospora* sp. y *Funneliformis mosseae* BEG-25 son los de mayor interés en la remediación del suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Las condiciones extremas afectaron el desarrollo vegetal, sin embargo, *R. communis* logró complementar su ciclo de vida. Esta oleaginosa se comportó como una planta excluyente de Pb. Por lo cual, esta planta podría utilizarse en la fitorremediación del sitio en estudio. Es importante destacar que no se detectó Pb en la torta, ni en el aceite de las semillas de ricino. Por esta razón, *R. communis* se puede cultivar en el suelo contaminado con Pb y Cu, con mínimo riesgo de transferencia de los mismos en el aceite o en la torta en las semillas.

Al final del experimento, se observó una disminución de la concentración de las moléculas osmoprotectoras (azúcares solubles totales y prolina) y la actividad de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa) en las plantas. Los HMA no modificaron significativamente las moléculas osmoprotectoras, ni la actividad de superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa en las plantas. Estos resultados sugieren que las plantas de *R. communis* se adaptan y no utilizan estas vías metabólicas para aliviar la situación de estrés por Pb, en periodos prolongados de exposición. En contraste, la concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de ricino aumentó a los 15 meses de edad de las plantas. Es la primera vez, que se reporta la concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas de *R. communis* creciendo en un sitio altamente contaminado de Pb. También, en este estudio se reportó diferencia significativa en la concentración de compuestos fenólicos totales en *R. communis* en asociación con los HMA. Las plantas testigo incrementaron la concentración de compuestos fenólicos totales como respuesta al estrés de Pb. Mientras que las plantas inoculadas con *F. mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp. disminuyeron la concentración de compuestos fenólicos totales, lo cual implica que estos hongos disminuyen el estrés oxidativo. Mientras que las plantas testigo y en asociación con *Acaulospora* sp y *Gi. gigantea* incrementaron la concentración de compuestos fenólicos totales en las hojas. Sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para explorar otros mecanismos de tolerancia a Pb por las plantas y los HMA al crecer en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

F. mosseae BEG-25 disminuyó la concentración extractable de Pb en la rizósfera de *R. communis* en comparación con la concentración de este EPT en la rizósfera las plantas sin inocular. Las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. acumularon menor concentración de Pb en la parte aérea vegetal en comparación con las plantas testigo. *R. communis* inoculado con los HMA presentó mayor colonización micorrízica y peso seco de las semillas de ricino en comparación con las plantas testigo creciendo en un suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil.

Acaulospora sp. incrementó la calidad del aceite de ricino, debido a que tuvo mayor porcentaje de ácido palmítico, oleico y linoleico en comparación con el aceite de las semillas de las plantas testigo. Mientras que *F. mosseae* BEG-25 solo incrementó la concentración de ácido linoleico y palmítico. Tanto *Acaulospora* sp. como *F. mosseae* BEG-25 además de incrementar el porcentaje de ácidos grasos en el aceite producido, tienen el potencial para reducir la disponibilidad de Pb, promover la producción de aceite y peso de semilla.

Es importante destacar que el presente estudio es el primero en reportar la contribución de los HMA y *R. communis* en un problema real en suelo contaminado con residuos de baterías de automóvil. El sitio está en proceso de fitorremediación y con potencial para uso en el campo de producción de bioenergéticos. Pero, es necesario realizar más estudios sobre las especies químicas tanto del Pb como del Cu, así como profundizar en los mecanismos de tolerancia involucrados, tanto de los HMA como de *R. communis* ante estas condiciones de contaminación.

2.8 RECOMENDACIONES

Informar mediante una presentación y trípticos a la población el riesgo de vivir en las zonas aledañas del sitio altamente contaminado con residuos de baterías de automóvil, así como, comunicar a los habitantes acerca de la disminución de la disponibilidad del Pb que se obtuvo en este trabajo mediante el uso de *R. communis* y HMA.

Profundizar en la caracterización fisicoquímica del suelo (mineralogía, óxidos, hidróxidos, carbonato, cloruros, etc.) así como, realizar un estudio de dispersión de la contaminación de EPTs y sales, tanto vertical como horizontal, para conocer el alcance y el impacto ambiental que tiene el sitio en estudio.

Realizar análisis sobre la diversidad y los efectos de los HMA sobre el crecimiento de las plantas nativas que crecen en el sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil. Debido a que estos hongos pueden conferir tolerancia a las plantas y asistir en la fitorremediación de Pb.

Estudiar ampliamente el mecanismo de tolerancia a Pb que utilizan tanto las plantas de ricino, como los HMA, durante periodos prolongados de exposición del Pb presente en el sitio contaminado. Así como, analizar los genes implicados (vegetales y fúngicos) en la tolerancia a Pb para entender claramente el mecanismo de tolerancia a Pb y su posible aplicación en la fitorremediación de este contaminante.

Estudiar la interacción de los inóculos mixtos de *Acaulospora* sp. y *F. mosseae* BEG-25 en asociación con *R. communis* para su posible aplicación en la fitorremediación de Pb.

Dar seguimiento del proceso de fitorremediación en el sitio con estudios de especiación química que permitan corroborar la estabilización de los contaminantes, para minimizar los riesgos a los seres vivos por su exposición.

2.9 BIBLIOGRAFÍA CITADA

Abd-Allah E F, Hashem Abeer, Alqarawi A A, Alwathnani Hend A (2015) Alleviation of adverse impact of cadmium stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. Pakistan Journal of Botany 47:785-795.

Adegoke J A, Owoyokun T O, Amore I O (2009) Open land dumping: an analysis of heavy metals concentration of an old lead-battery dumpsite. Pacific Journal of Science and Technology 10:592-595.

Adamo P, Dudka S, Wilson M J, Mchardy W J (2002) Distribution of trace elements in soils from the Sudbury smelting area (Ontario, Canada). *Water, Air, and Soil Pollution* 137:95-116.

Adriano D C (2001) Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of metals (2nd ed). Springer-Verlag New York.

Aguilar J, Dorronsoro C, Galán E, Gómez Ariza J L (1999) Los criterios y estándares para declarar un suelo como contaminado en Andalucía y la metodología y técnica de toma de muestras y análisis para su investigación. *In: Investigación y desarrollo medioambiental en Andalucía*. OTRI. Universidad de Sevilla. pp: 61-64.

Aguilar J, Dorronsoro C, Fernández E, Fernández J (2004) Soil pollution by pyrite mine spill in Sapin, evolution in time. *Environmental Pollution* 132:395-401.

Akmal M, Janming X, Zhaojun L, Haizhen W, Huaiying Y (2005). Effects of lead and cadmium nitrate on biomass and substrate utilization pattern of soil microbial communities. *Chemosphere* 60:508-14.

Aldoobie N F, Beltagi M S (2013) Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. *African Journal of Biotechnology* 12:4614-4622.

Alloway B J (1995) Heavy Metals in soils. Alloway B J (ed). Blackie Academic and Profesional, Londond U.K.

Alves do C J, de Souza A P, Pôrto L A M, Fontes R L F, Arruda J, Marques L F (2016) Potential of sunflower, castor bean, common buckwheat and vetiver as lead phytoaccumulators. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 20:243-249.

Amzallag G N (2005) Perturbed reproductive development in salt-treated *Sorghum bicolor*: a consequence of modifications in regulation networks? *Journal of Experimental Botany* 56:2821-2829.

Ananthi T A S, Meerabai R S, Krishnasamy R (2012) Potential of *Ricinus communis* L. and *Brassica Juncea* (L.) Czern under natural and induced Pb Phytoextraction. *Universal Journal of Environmental Research and Technology* 5:429-438.

Anastasia U, Sortinoa O, Cosentino S L, Patanè C (2015) Seed yield and oil quality of perennial castor bean in a Mediterranean environment *International Journal of Plant Production* 9: 99-116.

Ankerman D, Large R (1978) *Soil and Plant Analysis*. Agricultural laboratories, Inc. Memphis, Tennessee, Technical Report. 82 pp.

Bago B, Vierheilig H, Piche Y, Azcón-Aguilar C (1996) Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. *New Phytologist* 133:273-280.

Bago B, Azcón-Aguilar C (1997) Changes in the rhizospheric pH induced by arbuscular mycorrhiza formation in onion (*Allium cepa* L.). *Z. Pflanzenernah. Bodenk.* 160:333-339.

Bahraminiaa M, Zareia M, Ronaghia A, Ghasemi-Fasaeia R (2016) Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of lead-contaminated soil by vetiver grass. *International Journal of Phytoremediation* 18:730-737.

Bai X Y, Dong Y J, Wang Q H, Xu L L, Kong J, Liu S (2015) Effects of lead and nitric oxide on photosynthesis, antioxidative ability, and mineral element content of perennial ryegrass. *Biologia Plantarum* 59:163-170.

Barcos-Arias M, Vázquez Martínez J, Maldonado Vega M, Alarcón A, Peña-Cabriaes J J (2014) Chemical characterization and local dispersion of slag generated by a lead recovery plant in Central Mexico. *African Journal of Biotechnology* 13:1973-1978.

Basel S B C (2003) Technical guidelines for the environmentally sound management of waste lead-acid batteries. Secretariat of the Basel Convention. Châtelaine, Switzerland.

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.

Bates T E (1971) Factors affecting critical nutrient concentrations in plants and their evaluation. *Soil Science Society of America* 112:116-130.

Bates L S (1973) Rapid determination of free proline for waterstress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.

Bauddh K, Singh R P (2012) Growth, tolerance efficiency and phytoremediation potential of *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) in salinity and drought affected cadmium contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 85:13-22.

Bauddha K, Singhb K, Singha B, Singh R P (2015) *Ricinus communis*: A robust plant for bio-energy and phytoremediation of toxic metals from contaminated soil. *Ecological Engineering* 84:640-652.

Bernier G, Havelange A, Houssa C, Petitjean A, Lejeune P (1993) Physiological signals that induce flowering. *The Plant Cell* 5:1147-1155.

Biskup A, Izmailow R. (2004) Endosperm development in seeds of *Echium vulgare* L. (Boraginaceae) from polluted sites. *Acta Biologica Cracoviensia* 46:39-44.

Blacksmith Institute (2012) Annual report. New York, USA. www.blacksmithinstitute.org

Bohn H L, McNeal B L, Connor G A (1985) Soil Chemistry (2nd ed). Interscience Wiley, New York. USA.

Bhardwaj P, Ashish K C, Prasad P (2009) Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris*. Nature and Science 8:63-75.

Bradford M M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Analytical Biochemistry 72:248-254.

Briat J F, Lebrun M (1999) Plant response to metal toxicity. Plant Biology and Pathology 322:43-54.

Brady N C, Weil R R (2008) The nature and properties of soils (14th ed). Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. USA.

Bryant P S, Petersen J N, Lee J M, Brouns T M (1992) Sorption of heavy metals by untreated red sawdust. Applied Biochemistry and Biotechnology 34:777-788.

Cabral L, Siqueira J O, Soares C R F S, Pinto J E B (2010) Retention of heavy metals by arbuscular mycorrhizal fungi mycelium. Química Nova 33:25-29.

Cabral L, Sousa Soares C R F, Giachini A J, Siqueira J O (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of contaminated areas by trace elements: mechanisms and major benefits of their applications. World Journal of Microbiology and Biotechnology 31:1655-1664.

Cecchi M, Dumat C, Alric A, Felix-Faure B, Pradere P, Guisresse M (2008) Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma*:287-298.

Chandrashekhar S, Sannappa B, Manjunath K G, Govindan R (2013) Nutritive value of leaves in different genotypes of castor (*Ricinus communis* L.). *Indian Journal of Plant Sciences* 2:22-27.

Chang F H, Broadbent F E (1981) Influence of trace metals on carbon dioxide evolution from a Yolo soil. *Soil Science* 132:416-421.

Chatterjee C, Dube B. K, Pratima S, Parul S (2004) Detrimental effects of lead phytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35:255-265.

Chen M L Q, Singh S P, Cao R X, Melamed R (2003) Field demonstration of in situ immobilization of soil Pb using P amendments. *Advances in Environmental Research* 8:93-102.

Chen X, Wu C, Tang J, Hu S (2005) Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. *Chemosphere* 60:665-671.

Chen A, Cai B, Dietrich KN, Radcliffe J, Rogan W J (2007) Lead exposure, IQ, and behavior in urban 5- to 7-year olds: Does lead affect behavior only by lowering IQ? *Pediatrics* 119:650-658.

Chen L, Hu X, Yang W, Xu Z, Zhang D, Gao S (2015) The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on sex-specific responses to Pb pollution in *Populus cathayana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 113:460-468.

Churchman G J, Skjemstad J O, Oades J M (1993) Influence of clay-minerals and organic-matter on effects of sodicity on soils. *Australian Journal of Soil Research* 31:779-800.

Clemente R, Walker D J, Pardo T, Martínez-Fernández D, Bernal M P (2012) The use of a halophytic plant species and organic amendments for the remediation of a trace elements-contaminated soil under semi-arid conditions. *Journal of Hazardous Materials* 223:63-71.

Codignola A, Verotta L, Spanu P, Maffei M, Scannerini S, Bonfante- Fasolo P (1989) Cell wall bound phenols in roots of vesicular–arbuscular mycorrhizal plants. *New Phytologist*. 112:221-228.

Coya B, Marañón E, Sastre H (2000) Ecotoxicity assessment of slag generated in the process of recycling lead from waste batteries. *Resources Conservation and Recycling*. 29:291-300.

Cuellar-Sánchez A, González-Chávez M C, Carrillo-González R (2011) Production of extraradical mycelium and its metal immobilization capacity in the association *Glomus mosseae* BEG 25-sorghum. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 2:1-11.

Cuellar-Sánchez A, Carrillo-González R, Delgado-Alvarado A, González-Chávez M C A (2016) Propiedades agroproductivas de *Ricinus communis* L. y caracterización fisicoquímica del aceite. *Agroproductividad* 3:74-78.

Cunningham S D, Lee C R (1995) Phytoremediation: Plant-based remediation of contaminated soil and sediments. *Biorremediation: Science and Application*. SSSA Special Publication. Madison, USA.

Dai G X, Peng K Q, Xiao L T, Deng G F (2006) Effect of drought stress simulated by PEG on malonaldehyde, proline contents and superoxide dismutase activity in low potassium tolerant rice seedlings. *Chinese Journal of Rice Science* 20:557-559.

Dean W E (1974) Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology* 44:242-248.

Devi R, Munjral N, Gupta A K, Kaur N (2013) Effect of exogenous lead on growth and carbon metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19:81-89.

Dey S K, Dey J, Patra S, Pothal D (2007) Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19:53-60.

Dhindsa R H, Plumb-Dhindsa R, Thorpe T A (1981) Leaf senescence correlated with increased level of membrane permeability, lipid peroxidation and decreased level of SOD and CAT. *Journal of Experimental Botany* 32:93-101.

Edwards L J (2000) Modern statistical techniques for the analysis of longitudinal data in biomedical research. *Pediatric Pulmonology* 30:330-344.

EPA, Environmental Protection Agency (1994) Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils, Method 3051, Office of Solid Waste and Emergency Response, U S Government Printing Office, Washington, D C.

EPA, Environmental Protection Agency (1997) Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils. Office of Solid Waste and Emergency Response. Technology Innovation Office. Washington, USA.

EPA, Environmental Protection Agency (1999) Background report on fertilizer use, contaminants and regulations. EPA-747-R-98-003. Washington, USA.

EPA, Environmental Protection Agency (1986). Method 9038. Sulfate (Turbidimetric). Washington, USA.

Ernst W H O (1996) Bioavailability of heavy metals and decontamination of soil by plants. *Applied Geochemistry* 11: 163-167.

Ewers W (1991) Standards, guidelines and legislative regulatory concerning metals and their compounds. *In: Merian E V Publishers (ed). Metals and their compounds in the environment. Weinheim, Germany. pp: 707-711.*

Faé G, Furlanetto T, Wada K (2011) Reduction in toxicity and generation of slag in secondary lead process. *Journal of Cleaner Production* 19:1096-1103.

Piniór A, Wyss U, Piche Y, Vierheilig H (1999) Plants colonized by AM fungi regulate further root colonization by AM fungi through altered root exudation. *Canadian Journal of Botany* 77:891-897.

Fassbender W H, Bornemisza E (1987) *Química de suelos, con énfasis en suelos de América Latina* (2nd. ed). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José Costa Rica.

Fatima R A, Ahmad M (2004) Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Science of the Total Environment* 346:256-273.

Feng M H, Shan X Q, Zhang S, Wen B (2005) A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl₂ and NaNO₃ extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. *Environmental Pollution* 137:231-240.

Ferreres F, Figueiredo R, Bettencourt S, Carqueijeiro I, Oliveira J, Gil-Izquierdo A, Pereira D M, Valentão P, Andrade P B, Duarte P, Barceló A R, Sottomayor M (2011).

Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an H₂O₂ affair? *Journal of Experimental Botany* 62:2841-2854.

Fewtrell L J, Prüss-Ustün A, Landrigan P, Ayuso-Mateos J L (2004) Estimating the global burden of disease of mild mental retardation and cardiovascular diseases from environmental lead exposure. *Environmental Research* 94:120-33.

Freitas E V y Nascimento C (2009) The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site. *Journal of Hazardous Materials* 171:833-837.

Freitas E V, Nascimento C W, Souza A, Silva F B (2013) Citric acid-assisted phytoextraction of lead: a field experiment. *Chemosphere* 92:213-217.

Freitas E V y Nascimento C (2016) Degradability of natural and synthetic chelating agents applied to a lead-contaminated soil. *Journal of Soils and Sediments* DOI 10.1007/s11368-015-1350-9.

García-Serrano J P, Ruano-Criado S, Lucena-Marotta J J, Nogales García M (2010) Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.

Gaur A, Adholeya A (2004) Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils *current science* 86:528-534.

Gharehbaghli N (2015) Investigation physiological characteristics of *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) in cadmium contaminated soil. *Scientific Journal of Crop Science* 4:38-42.

Giannopolities C N, Ries S K (1977) Superoxide dismutases. *Plant Physiology* 59:309-314.

Gil-Loaiza J, White S A, Root R A, F. A. Solís-Dominguez, Hammond C M, Chorover J, Maier R M. (2016) Phytostabilization of mine tailings using compost-assisted direct planting: Translating greenhouse results to the field. *Science of the Total Environment* 565:451-461.

Giovannetti M, Mosse B (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84:489-500.

Göhre V, Paszkowski U (2006) Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115-1122.

Gomes F, Oliva M, Mielke M, Almeida A, Aquino L (2010) Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae* 126:379-384.

Gomes S M S, Lima V L A, Souza A P (2014) Chloroplast pigments as indicators of lead stress. *Engenharia Agrícola* 34:877-884.

Gong Y, Dutrizac J E, Chen T T (1992) The conversion of lead sulphate to lead carbonate in sodium carbonate media. *Hydrometallurgy* 28:399-421.

González-Chávez M C A (2000) Arbuscular mycorrhizal fungi from As/Cu polluted soils, contribution to plant tolerance and importance of the external mycelium. Tesis de doctorado, University of Reading, UK.

González-Chávez M C A, Carrillo-González R, Wright S F, Nichols K A (2004) The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130:317-323.

González-Chávez M C, Carrillo-González R (2013) Tolerance of *Chrysanthemum maximum* to heavy metals: the potential for its use in the revegetation of tailings heaps. *Journal of Environmental Sciences* 25:367-375.

González-Chávez M C A, Ruíz-Olivares A, Carrillo-González R, Ríos-Leal E (2015). Crude oil and bioproducts of castor bean (*Ricinus communis* L.) plants established naturally on metal mine tailings. *International Journal of Environmental Science and Technology* 12: 2263-2272.

Goodarzi F, Darvishzadeh R, Hassani A, Hassanzaeh A (2012) Study on genetic variation in Iranian castor bean (*Ricinus communis* L.) accessions using multivariate statistical techniques. *Journal of Medicinal Plants Research* 6:1160-1167.

Gopal R, Rizvi A H (2008) Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere* 70:1539-1544.

Gottesfeld P y Pokhrel A K (2011) Review: Lead exposure in battery manufacturing and recycling in developing countries and among children in nearby communities. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 8:520-532.

Grandmaison J, Olah G.Z, Van Calsteren M R, Furlan V (1993) Characterisation and localisation of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. *Mycorrhiza* 3:155-164

Gucwa-Przepióra E, Nadgórska-Socha A, Fojcik B, Chmura D (2016) Enzymatic activities and arbuscular mycorrhizal colonization of *Plantago lanceolata* and *Plantago major* in a soil root zone under heavy metal stress. *Environmental Science and Pollution Research* 23:4742-4755.

Guo W, Zhao R, Yang H, Ji Z, Zhang J (2013) Using native plants to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on revegetation of iron tailings in grasslands. *Biology and Fertility of Soils* 49:617-626.

Gupta D, Huang H, Yang X, Razafindrabe B, Inouhe M (2010) The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatin but the glutathione. *Journal of Hazardous Materials* 177:437-444.

Hadi F, Arifeen M Z U, Aziz T, Nawab S, Nabi G (2015) Phytoremediation of cadmium by *Ricinus communis* L. in hydroponic condition. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental* 15:1155-1162.

Halliwell D, Turoczy N, Stagnitti F (2000) Lead concentrations in *Eucalyptus* sp. in a small Coastal Town. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 65:583-590.

Hasan S, Prakash J, Singh N (2013) Mycorrhizae and phytochelators as remedy in heavy metal contaminated land remediation. *International Research Journal of Environment Sciences* 2:74-78.

Hazzoumi Z, Moustakime Y, Elharchli E, Joutei K A (2015) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 2:1-11.

Heidari M, Karami V (2014) Effects of different mycorrhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 13:9-13.

Hessling J L, Esposito M P, Traver R P, Snow R H (1986) Results of bench-scale research efforts to wash contaminated soils at battery-recycling facilities. *In: Patterson J W, Passino*

R (eds). Metals speciation, separation, and recovery. Lewis Publishers, Chelsea, UK pp: 497-511.

Hildebrandt U, Regvar M, Bothe H (2007) Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 68:139-146.

Hirrel M C (1981) The effect of sodium and chloride salts on the germination of *Gigaspora margarita*. *Mycology* 73:610-617.

Huang J, Cunningham S (1996) Lead Phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologist* 134:75-84.

Janmohammadi M, Abbasi A, Sabaghnia N (2012) Influence of NaCl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Acta agriculturae Slovenica* 99:31-40.

Jansa J, Smith F A, Smith S E (2008) Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? *New Phytologist* 177: 779-789.

Jensen K H, Savage J A, Holbrook N M (2013) Optimal concentration for sugar transport in plants. *Journal of the Royal Society Interface* 10:1-9.

Jiménez A, Hernández J A, Río L A, Sevilla F (1997) Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology* 114:275-284.

Joner E J, Briones R, Leyval C (2000) Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil* 226:227-234.

Jones M B (1986) Sulfur availability indexes. *In: Tabatabai M A (ed). Sulfur in Agriculture. American Society of Agronomy Madison, Wisconsin, USA. pp: 549-566.*

Jumat S, Dina A M N, Nazrizawat A T, Mohd Firdaus M Y, Noraishah A (2010) Fatty acid composition and physicochemical properties of Malaysian castor bean *Ricinus communis* L. seed oil. *Sains Malaysiana* 39:761-764.

Kabata-Pendias A y Pendias H (1992) Trace Elements in Soils and Plants. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton. Florida.

Kabata-Pendias A, Pendias H (2000) Trace elements in soils and plants. CRC Press (3rd ed), Boca Raton, Florida, USA.

Kabata-Pendias A (2011) Trace elements in soils and plants (4th ed). CRC Press, New York, USA.

Kachout S S, Mansoura A B, Leclerc J C, Mechergui R, Rejeb M N Ouerghi Z (2009) Effects of heavy metals on antioxidant activities of *Atriplex hortensis* and *A. rosea* *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7:938-945.

Kaldorf M, Kuhn A J, Schröder W H, Hildebrandt U, Bothe H (1999) Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology* 154:718-728.

Kaplan M E, Simmons E R, Hawkins J C, Ruane L G, Carney J M (2015) Influence of cadmium and mycorrhizal fungi on the fatty acid profile of flax (*Linum usitatissimum*) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95:2528-2532.

Karimi S, Abbaspour H, Sinaki J M, Makarian H (2012) Effects of water deficit and chitosan spraying on osmotic adjustment and soluble protein of cultivars castor bean (*Ricinus communis* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8:160-169.

Khade S W, Adholeya A (2008) Effects of heavy metal (Pb) on arbuscular mycorrhizal fungi in vitro. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2:1663-1668.

Khan A G, Kuek C, Chaudhry T M, Khoo C S, Hayes W J (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41: 197-207.

Kidd P, Barcelo J, Bernal P, NavariIzzo F, Poschenreder C, Shilev S, Clemente R, Monterroso C (2009) Trace element behavior at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany* 67: 243-259.

Kim C, Lee Y, Ong S K (2003) Factors affecting EDTA extraction of lead from lead-contaminated soils. *Chemosphere* 51:845-853.

Kitson R E, Mellon M G (1944) Colorimetric determination of P as a molybdovanadato phosphoric acid. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 16:379-383.

Knothe G (2008) Designer biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuel* 22:358-1364.

Knudsen D, Peterson G A, Pratt P E (1982) Lithium, sodium and potassium. *In: Page A L (ed). Methods of Soil Analysis. Agronomy 9, American Society of Agronomy, Madison, WI pp:225-246.*

Kovalchuk I, Titov V, Hohn B, Kovalchuk O (2005) Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 570:149-161.

Kwiatkowska M, Izmałow R (2014) Ovules, female gametophytes and embryos are more sensitive to heavy metal pollution than anthers and pollen of *Cardaminopsis arenosa* (L.)

Hayek (Brassicaceae), a member of calamine flora. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 1:128-137.

Lanfranco L, Novero M, Bonfante P (2005) The mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses a CuZn superoxide dismutase that is up-regulated during symbiosis with legume hosts. *Plant Physiology* 137:1319-30.

Lagerwerff J V, Brower D L (1973) Exchange adsorption of precipitation of lead in soils treated with chlorides of aluminum, calcium, and sodium. *Soil Science Society of America, Proceedings* 37:11-13.

Lamhamdi M E, Galiou O, Bakrim A, Novoa-Munoz J C, Arias-Esteves M, Aarab A, Lafont R. (2013) Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedling. *Saudi Journal of Biological Sciences* 20:29-36.

Lasat M (2000) Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Hazardous Substance Research* 2:1-25.

Lavanya C, Murthy I Y L N, Nagaraj G, Mukta N (2012) Prospects of castor (*Ricinus communis* L.) genotypes for biodiesel production in India. *Biomass and Bioenergy* 39:204-209.

Lavid N, Schwartz A, Yarden O, Tel-Or E (2001) The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy metal accumulation by epidermal glands of waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta* 212:323-331.

Leyval C, Turnau K, Haselwandter K (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: Physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7:139-153.

Lenoir I, Fontaine J, Lounès-Hadj A S (2016) Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review *Phytochemistry* 123:4-15.

Li T S C, Beveridge T H J (2003) Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): Production and Utilization. N R C Research Press, Ottawa, Ontario.

Li G A, Wanb S, Zhoua J, Yanga Z, Qina P (2010) Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. *Industrial Crops and Products* 31:13-19.

Li X, Huang L (2015) Toward a new paradigm for tailings phytostabilization-nature of the substrates, amendment options, and anthropogenic pedogenesis. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 45:813-839.

Lichtenthaler H K, Wellburn A R (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 603:591-592.

Lima A L R, Bernardez LA (2011) Characterization of the lead smelter slag in Santo Amaro, Bahia, Brazil. *Journal of Hazardous Materials* 189:692-699.

Lima F S, Nascimento C W A, do Sousa C S (2015) Lead and nutrient allocation in vegetables grown in soil from a battery site *Ciências Agrárias Londrina* 36:2483-2492.

Lindsay W L, Norvell W A (1978) Development of DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42:421-428.

Lopes-Leal P, Varón-López M, de Oliveira Prado G, Valentim dos Santos J, Sousa Soares C R F, Siqueiraa J O, de Souza Moreira F M (2016) Enrichment of arbuscular mycorrhizal

fungi in a contaminated soil after rehabilitation. *Brazilian Journal of Microbiology* 109:1-10.

Lum M S, Hanafi M M, Rafii Y M, Akmar A S N (2014) Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 24:1487-1493.

Maherali H, Klironomos J N (2007) Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316:1746-1748.

Malar S, Vikram S S, Favas P J C, Perumal V (2014) Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Botanical Studies* 55:54-65.

Malcova R, Vosatka M, Gryndler M (2003) Effects of inoculation with *Glomus intraradices* on lead uptake by *Zea mays* L. and *Agrostis capillaris*. *Applied Soil Ecology* 23:255-267.

Manceau A, Boisse M C, Sawet G, Hazemann J L, Mench M, Cambier P, Prost R (1996) Direct determination of lead speciation in contaminated soils by EXAFS spectroscopy. *Environmental Science and Technology* 30:1540-1552.

Mathieu Y, Kurkdjian A, Xia H, Guern J, Koller A, A Spito, Neil M D O, Albersheim P, Darvill A (1991). Membrane responses induced by oligogalacturonides in suspension cultured tobacco cells. *The Plant Journal* 1:333-343.

McBride M B (1989) Reaction controlling heavy metals solubility in soils. *Advances in Soil Science* 10:1-56.

McGrath S P (1998) Phytoextraction for soil remediation. *In*: Brooks R R (ed). Plants that hyper-accumulate heavy metals-their role in phytoremediation, microbiology, archeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, New York, USA. pp: 261-287.

McMillen B G, Juniper S, Abbott L K (1998) Inhibition of hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Biology Biochemistry* 30:1639-1646.

Mehta S K, Gaur J P (1999) Heavy metal induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytobiology* 143:253-259.

Meier S, Borie F, Bolan N, Cornejo P (2012) Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42:741-775.

Méndez M O, Maier R M (2008) Phytoremediation of mine tailings on temperate and arid environments. *Review Environmental Science and Biotechnology* 7:47-59.

Michalak A (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 15:523-530.

Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants y stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7:405-410.

Miransari M (2010) Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology* 12:563-569.

Mishra S, Srivastava S, Tripathi R, Kumar R, Seth C, Gupta D (2006) Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65:1027-1039.

Montreuil J, Spik G, Fournet B, Toillier T (1997) Nonenzymatic determinations of carbohydrates. *In*: Multon L (ed). Analysis of Food Constituents. Wiley. USA. pp: 112-114.

Montaño A N M, Quibor V, Cruz-Flores G (2001) Colonización micorrízica arbuscular y fertilización mineral de genotipos de maíz y trigo cultivados en un Andisol. *Revista Terra* 19:339-344.

Morandi D (1996) Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds on endomycorrhizal interactions, and their potential role in biological control. *Plant and Soil* 185:241-251.

Morgan J F, Klucas R V, Grayer R J, Abian J, Becana M (1997) Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine* 22:861-870.

Mourato M, Reis R, Martins L (2012) Characterization of plant antioxidative system in response to abiotic stresses: A focus on heavy metal toxicity. *In*: Montanaro G, Dichio B (eds). *Advances in Selected Plant Physiology Aspects*. Intech: Rijeka, Croatia pp: 23-44.

Nareshkumar A, Nagamallaiah G V, Pandurangaiah M, Kiranmai K, Amaranathareddy V, Lokesh U, Venkatesh B, Sudhakar C (2015) Pb-stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. *Agricultural Sciences* 6:1283-1297.

Nedwed T, Clifford D A (1997) A survey of lead battery recycling sites and soil remediation processes. *Waste Managem* 17:257-269.

Nedwed T, Clifford D A (2000) Feasibility of extracting lead from lead battery recycling site soil using high concentration chloride solutions. *Environmental Progress* 19:197-206.

Neagoe A, Stancu P, Nicoară A, Onete M, Bodescu F, Gheorghe R, Iordache V (2014) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *Agrostis capillaris* grown on amended mine tailing substrate at pot, lysimeter, and field plot scales. *Environmental Science and Pollution Research* 21:6859-6876.

NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. México.

NOM-052-SEMARNAT-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y vanadio.

Ogundiran, M B Osibanjo O (2009) Mobility and speciation of heavy metals in soils impacted by hazardous waste. *Chemical Speciation and Bioavailability* 21:59-69.

Ogunniyi D S (2006) Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology* 97:1086-1091.

Olivares E L (2003) The effect of lead on the phytochemistry of *Tithonia diversifolia* exposed to roadside automotive pollution or grown in pots of Pb-supplemented soil. *Brazil Journal of Plant Physiology* 15:149-158.

Onianwa P C, Fakayode S O (2000) Lead contamination of topsoil and vegetation in the vicinity of a battery factory in Nigeria. *Environmental Geochemistry and Health* 22:211-218.

Padmavathiamma P K, Li L Y (2007) Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. *Water, Air and Soil Pollution* 184:105-126.

Pagano M C, Persiano A I C, Cabello M N, Scotti M R (2010) Elements sequestered by arbuscular mycorrhizal spores in riverine soils: a preliminary assessment. *Journal of Structural Biology* 2:16-21.

Paoliell M M B, Capitani E M, Cunha F G, Matsuo T, Carvalho M F, Sakuma A, Figueiredo B R (2002) Exposure of children to lead and cadmium from a mining area of Brazil. *Environmental Research* 88:120-128.

Pardo T, Martínez-Fernández D, Clemente R, Walker D J, Bernal M P (2014) The use of olive-mill waste compost to promote the plant vegetation cover in a trace-element contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research* 21:1029-1038.

Passioura J B (1976) Translocation and the diffusion equation. *In: Wardlaw I F, Passioura J B (eds). Transport and transfer processes in plants. Academic Press. New York, USA: pp: 357-361.*

Pazoki A (2015) Evaluation of flavonoids and phenols content of wheat under different lead PGPR and mycorrhiza levels. *Biological Forum an International Journal* 7:309-315.

Peralta N R, Costa J L, Balzarini M, Angelini H (2013) Delineation of management zones with measurements of soil apparent electrical conductivity in the Southeastern Pampas. *Canadian Journal of Soil Science* 93:205-218.

Perea-Vélez Y S, Carrillo-González R, Solís-Domínguez F A, González-Chávez M C A (2015) Fitorremediación de un residuo de mina asistida con enmiendas y bacterias promotoras de crecimiento. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal* 6:31-49.

Pfeiffer C M, Bloss H E (1988) Growth and nutrition of guayule (*Parthenium argentatum*) in a saline soil as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization. *New Phytologist* 108:315-321.

Phillips J M, Hayman D S (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.

Pichtel J, Kuroiwa K, Sawyerr H T (2000) Distribution of Pb, Cd, and Ba in soils and plants of two contaminated sites. *Environmental Pollution* 110:171-178.

Pinheiro H A, Silva J V, Endres L, Ferreira V M, Camara C A, Cabral F, Oliveira J F, Carvalho L T, Santos J M, Santos-Filho B J (2008) Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) plants subjected to salt stress conditions. *Industrial Crop and Products* 27:385-392.

Porcel R, Ruiz-Lozano J M (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany* 55:1743-1750.

Presotto R A, Alves G Z, Nascimento E C, Genuncio G D C, Zonta E (2016) Early development of castor beans grown under salinity conditions (varieties. BRS Energia, MPA 34 and MPB 01) *Revista Caatinga*: 29:805-811.

Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M. Das P. (2010) Symbiotic role of *Glomus mosseae* in lead phytoextraction using vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. *Journal of Hazardous Materials* 177:465-474.

Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, Pinelli E (2011) Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213:113-136.

Quintanar-Escorza M A, González-Martínez M T, Navarro L, Maldonado M, Arévalo B, Calderón-Salinas J V (2007). Intracellular free calcium concentration and calcium transport in human erythrocytes of lead exposed workers. *Toxicology and Applied Pharmacology* 220:1-8.

Qiao X, Zheng Z, Zhang L, Wang J, Shi G, Xu X (2015) Lead tolerance mechanism in sterilized seedlings of *Potamogeton crispus* L.: sub-cellular distribution, polyamines and proline. *Chemosphere* 120:179-187.

Qureshi M, Abdin M, Qadir S, Iqbal M (2007) Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. *Biologia Plantarum* 51:121-128.

Raij B V, Quaggio J A, Cantarella H, Abreu C A (1996) Interpretação dos resultados de análise de solo. *In*: Raij B V, Cantarella H, Quaggio J A, Furlani A (eds). *Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo*. Campinas: Instituto Agrônomo. São Paulo. Brasil. pp: 8-13.

Rajulton F (2001) The fundamentals of longitudinal research: an overview. *Canadian Studies in Population* 28:169-85.

Rattan R K, Datta S P, Chhonkar P K, Suribabu K, Singh A K (2005) Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater-a case study. *Agriculture, Ecosystem and Environment*.109:310-322.

Redecker D, Raab P (2006) Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia* 98:885-895.

Ribeiro P R, Fernandez L G, Castro R D, Ligterink W, Hilhorst H W M (2014) Physiological and biochemical responses of *Ricinus communis* seedlings to different temperatures a metabolomics approach. *BMC Plant Biology* 223:1-14.

Richards L A (1973) Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. Limusa, D.F. México.

Rhoades J D (1996) Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. *In*: Sparks D L (eds). Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Soil Science Society of America, Madison. pp: 417-435.

Romeiro S, Lagôa A M M A, Furlani P R, de Abreu C A, de Abreu M F, Erismann N M (2006) Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. Braz. Journal of Plant Physiology 18:483-489.

Rolland F, Baena-González E, Sheen, J (2006). Sugar Sensing and Signalling in plants: Conserved and novel mechanisms. Annual Review of Plant Biology 57:675-709.

Roya K, Fatemeh G (2013) Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5:305-312.

Royer M D, Selvakumar A, Gaire R (1992) Control technologies for remediation of contaminated soil and waste deposits at Superfund lead battery recycling sites. Journal of the Air and Waste Management Association 42:970-980.

Rowell D L (1994) Soil Science. Methods and Applications. Longman, UK.

Ruíz-Olivares A, Carrillo-González R, Marcos Soto R, González-Chávez M C (2013) Potential of *Ricinus communis* L. in phytoremediation and oil production. Journal of Environmental Management 114:316-323.

Saadati M, Motesharezadeh B, Moezardalan M (2012) Study of concentration changes of proline and potassium for two varieties of pinto beans under cadmium stress. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 3:344-352.

Sadeghipour O (2016) Pretreatment with nitric oxide reduces lead toxicity in cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) *Archives of Biological Science Belgrade* 68: 165-175.

Saleem A, Ahotupa M, Pihlaja K (2001) Total phenolics concentration and antioxidant potential of medicinal plants of Pakistan. *Zeitschrift Fur Naturforschung* 56:973-978.

Salomone R, Mondello F, Lanuzza F, Mical G (2005) An eco-balance of a recycling plant for spent lead–acid batteries. *Environmental Management* 35: 206-219.

Sandalio L M, Dalurzo H C, Gómez M, Romero-Puertas M C, del Rio LA (2001). Cadmium induces changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany* 52:2115-2126.

Saradhi A P (1991) Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 138:554-558.

SAS Institute Inc (2002) SAS/STATs User's Guide, Version 9.0. SAS Institute Inc, Cary, NC.

Sauve S, Henderson W, Allen H E (2000) Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science and Technology* 34:1125-1131.

Schneider J, Bundschuh J, do Nascimento C W A (2016) Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoremediation of a lead-contaminated site. *Science of the Total Environment* 572:86-97.

Serrano R, Gaxiola R (1994) Microbial models and salt stress tolerance in plants. *Reviews in Plant Science* 13:121-138.

Seregin I V, Ivaniov V B (2001) Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48:606-630.

Sharma P, Dubey R S (2005) Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17:35-52.

Sharma N C, Gardea-Torresdey J L, Parsons J, Sahi S V (2004) Especiación química y deposición celular de plomo en *Sesbania drummondii*. *Environmental Toxicology Chemistry* 23:2068-2073.

Sharma S S, Dietz K J (2009) The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends in Plant Science* 14:43-50.

Sharma S, Villamor J G, Verslues P E (2011) Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. *Plant Physiology* 157:292-304.

Shi G, Cai Q (2009) Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops. *Biotechnology Advances* 27: 555-561.

Silva M M A, Willadino L D Yara Santos A C, Oliveira A F M, Camara T R (2016) Response of *Ricinus communis* L. to in vitro water stress induced by polyethylene glycol. *Plant Growth Regulation* 78:195-204.

Singh R P, Tripathi R D, Sinha S K, Maheshwari R, Srivastava H S (1997) Response of higher plants to lead contaminated environment. *Chemosphere* 34:2467-2493.

Singh R, Tripathi R D, Dwivedi S, Kumar A, Trivedi P K Chakrabarty D (2010). Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. *Bioresource Technology* 101:3025-3032.

Singh H P, Kaur G, Batish D R, Kohli R K (2011) Lead (Pb)-inhibited radicle emergence in *Brassica campestris* involves alterations in starch-metabolizing enzymes. *Biological Trace Element Research* 144:1295-1301.

Singleton V L, Orthofer R, Lamuela R M (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology* 299:152-178.

Smith S E, Read D J (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed. Academic Press, London. 787 p.

Small M J, Nunn A B, Forslund B L, Daily D A (1995) Source attribution of elevated residential soil lead near a battery recycling site. *Environmental Science and Technology* 29:883-895.

Sobrino AS, Miranda MG, Alvarez C, Quiroz A (2010) Bio-accumulation and toxicity of lead (Pb) in *Lemna gibba* L (duckweed). *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic, Hazardous Substances and Environmental Engineering* 45:107-110.

Soleimanzadeh H (2010) Effect of VA–Mycorrhiza on growth and yield of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) at different phosphorus levels. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 71:414-417.

Solís-Domínguez F A, White S A, Hutter T B, Amistadi M K, Root R A, Chorover J, Maier R M (2012) Response of key soil parameters during compost-assisted phytostabilization in extremely acidic tailings: effect of plant species. *Environmental Science and Technology* 46:1019-1027.

Sparks D (2005) Toxic metals in the environment: The role of surfaces. *Elements* 1:193-197.

Sposito G, Page J (1984) Cycling of metal ions in the soil environment. *In: Siegel H (ed): Metal ions in biological system. Marcel Dekker. New York, pp:287-332*

Stefanov K, Popova I, Kamburova E, Pancheva T, Kimenov G, Kuleva L, Popov S (1993) Lipid and sterol changes in *Zea mays* caused by lead ions. *Phytochemistry* 33:47-51.

Stiborova M, Ditrichová M, Březinová A (1987) Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedlings. *Biologia Plantarum* 29:453-467.

Strawn D G, Sparks D L (2000) Effect of soil organic matter on the kinetics and mechanisms of Pb (II) sorption and desorption in soil. *Soil Science Society of America Journal* 64:144-156.

Sunitha R, Mahimairaja S, Bharani A, Gayathri P (2014) Enhanced phytoremediation technology for chromium contaminated soils using biological amendments. *International Journal of Science and Technology* 3:153-162.

Stürmer S L, Siqueira J O (2008) Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiro. *In: Moreira F M S, Siqueira J O, Brussard L (eds). Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. UFLA, Lavras. pp:537-584.*

Sylvia D M, Williams S E (1992) Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress. *In: Bethlenfalvay G J, Linderman R G (eds). Mycorrhizae in sustainable agriculture. Special Publication. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. pp: 101-124.*

Tabrizi L, Mohammadi S, Delshad M, Moteshare-Zadeh B (2015) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and phytoremediation performance of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under heavy metals stress 17:1244-1252.

Trépanier M, Bécard G, Moutoglis P, Willemot C, Gagné S, Avis T J, Rioux J A (2005). Dependence of arbuscular-mycorrhizal fungi on their plant host for palmitic acid synthesis. *Applied and Environmental Microbiology* 71:5341-5347.

Thirupathi K, Jun-Cheol M, Changsoo K, Kumariah M, Wook K (2011) Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science* 5:709-725.

Trnovsky M, Oxeer J P, Rudy R J, Weinstein G L, Hartsfield B (1997). Site remediation of heavy metals contaminated soils and groundwater at a former battery reclamation site in Florida. *In: Lindberg S E, Hutchinson T C (eds). Heavy Metals in the Environment, CEP Consult, Edinburgh. pp: 80-88.*

Van den Berg R, Dennenman C A, Roels J M (1993) Risk assessment of contaminated soil: *In: Arendt F, Annokké G J, Bosman R, van der Brink W J (eds). Proposal for adjusted, toxicologically based Dutch soil clean-up criteria. Contaminated Soils. Kluwer Academic Publisher, London. pp: 349-364.*

Vangronsveld J y Cunningham S D (1998) Metal-contaminated soils. *In: Landes R G (ed). Situ inactivation and phytoremediation. Georgetown, USA.*

Verbeke G, Fieuws S, Molenberghs G, Davidian M (2014) The analysis of multivariate longitudinal data: A review. *Statistical Methods in Medical Research* 23:42-59.

Verma S, Dubey R S (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science* 164:645-655.

Villegas J, Williams R D, Nantais L, Archambault J, Fortin J A (1996) Effects of N source on pH and nutrient exchange of extramatrical mycelium in a mycorrhizal Ri T-DNA transformed root system. *Mycorrhiza* 6:247-251.

Vodnik D, Jentschke G, Fritz E, Gogala N, Godbold D L (1999) Root-applied cytokinin reduces lead uptake and effects its distribution in Norway spruce seedlings. *Physiologia Plantarum* 106:75-81.

Vodnik D, Grčman H, Maček I, Van Elteren J T, Kovačević M (2008) The contribution of glomalin related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of the Total Environment* 392:130-136.

Vogel-Mikus K, Drobne D, Regvar M (2005) Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution* 133:233-242.

Wang F Y, Lin X G, Yin R (2005) Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzias splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant and Soil* 269:225-232.

Wang Z Q, Yuan Y Z, Ou J Q, Lin Q H, Zhang C F (2007) Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. *Journal of Plant Physiology* 164:695-701.

Wang C J, Lu S, Zhang P, Wang J, Hou, Qian J (2011) Effects of Pb stress on nutrient uptake and secondary metabolism in submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74:1297-1303.

Wei J, Li C, Li Y, Jiang G, Cheng G, Zheng Y (2013) Effects of external potassium (K) supply on drought tolerances of two contrasting winter wheat cultivars. *Plos one* 8:1-11.

Wierzbicka M, Antosiewicz D (1993) How lead can easily enter the food chain - a study of plant roots. *Science of the Total Environment* 134:423-429.

Wong M H (2003) Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50:775-780.

WHO, World Health Organization (1997) *Guideline for Drinking Water Quality* (2nd ed). Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva.

Wu F Y, Bi Y L, Leung H M (2010) Accumulation of As, Pb, Zn, Cd and Cu and arbuscular mycorrhizal status in populations of *Cynodon dactylon* grown on metal contaminated soils. *Applied Soil Ecology* 44:213-218.

Xing W, Wenming H, Liu G (2010) Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* (L.). *Schleid. Environmental Toxicology* 25:103-112.

Yang Y, Han X, Liang Y, Ghosh A, Chen J, Tang M (2015) The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. *Plus one* 10:1-24.

Yang Y, Liang Y, Han X, Tsan-Yu, Ghosh A, Chen H, Tang M (2016) The roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in phytoremediation and tree-herb interactions in Pb contaminated soil. *Scientific Reports* 6:20469 DOI: 10.1038/srep20469.

Yllanes P, Vélez-Azañero A, Lozano S (2014) Phytotoxic effects of lead on dekalb hybrid maize (*Zea mays* L.) in sandy and silty soil. *The Biologist* 12:337-348.

Zarei M, Hempel S, Wubet T, Schäfer T, Savaghebi G, Jouzani G S, Nekouei M K, Buscot F (2010) Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil chemical properties and heavy metal contamination. *Environmental Pollution* 158 2757-2765.

Zengin F K, Munzuroglu O (2005) Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia* 47:157-164.

Zeger S L y Liang K Y (1992) An overview of methods for the analysis of longitudinal data. *Statistics in Medicine* 11:1825-1839.

Zhang H H, Tang M, Chen H, Zheng C L, Niu Z C (2010) Effect of inoculation with AM fungion lead up take, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *European Journal of Soil Biology* 46:306-311.

Zhang Z-H, Wang H, Liu J, Qin W, Zhu M Y, Zu Y G, Tang Z H (2015) The effects of soil metals on the composition of oil of *Paeonia ostii* seeds. *Journal of Plant Interactions* 10:288-295.

Zhuang P, McBride MB, Xia H, Li N, Li Z (2009) Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of The Total Environment* 407:1551-1561.

Zimdahl R L, Skogerboe R K (1997) Behaviour of lead in soil. *Environmental science and Technology* 11:1202-1207.

ANEXOS

Anexo 1: Solución nutritiva Hoagland baja en fósforo (Millner y Kitt, 1992)

Nutriente	g 500mL ⁻¹ stocks	Concentración de la solución stock	mL de la solución stock / L ⁻¹ solución	Concentración final
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	118.1	1 M	2.5	2.5 mM
KNO ₃	50.55	1 M	2.5	2.5 mM
MgSO ₄ 7H ₂ O	123.24	1 M	1	1.0 mM
KH ₂ PO ₄	6.81	0.1 M	0.2	20 µM
NaFeEDTA	1.84	0.01 M	5	50 µM
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.24	0.002 M	0.1	0.2 µM
H ₂ BO ₃	3.09	0.01 M	0.1	10.0 µM
NiSO ₄ 6H ₂ O	0.26	0.002 M	0.1	0.2 µM
ZnSO ₄ 7H ₂ O	1.44	0.01 M	0.1	1.0 µM
MnCl ₂ 4 H ₂ O	1.98	0.02 M	0.1	2.0 µM
CuSO ₄ 5 H ₂ O	0.62	0.005 M	0.1	0.5 µM
CoCl ₂ 6 H ₂ O	0.24	0.002 M	0.1	0.2 µM

Anexo 2. Análisis longitudinal

El estudio longitudinal permite el seguimiento de los mismos individuos a través del tiempo eliminando los denominados efectos de cohorte (efectos de generación o evolución) u otros factores que varían entre individuos (Verbeke *et al.*, 2014). En contraste, los procedimientos clásicos, como el análisis de varianza (ANDEVA) o estudios transversales, no proporcionan información sobre el desarrollo de los individuos, ya que se observa al sujeto en sólo un momento temporal (y no hay seguimiento de las variables).

En el análisis longitudinal, cuando la respuesta se observa con respecto al tiempo, los datos del seguimiento de las variables reciben el nombre de datos longitudinales. Metodológicamente hablando, los elementos que se observan o miden en diversas ocasiones se denominan unidades, individuos o sujetos. Los intervalos de tiempo en que se observa o registra la respuesta de las unidades se denominan puntos de tiempo u ocasiones

y pueden variar desde unos cuantos minutos, días, meses, hasta muchos años. A su vez, el conjunto de estos datos longitudinales forma el perfil de respuesta (curva o tendencia) de cada unidad (Rajulton, 2001). El objetivo fundamental del estudio longitudinal es conocer no sólo los cambios o perfiles individuales, sino determinar si el cambio es significativo y si se dan diferencia entre los distintos sujetos (Zeger y Liang, 1992).

La principal desventaja de los estudios longitudinales es que suelen tener datos no balanceados e incompletos. No obstante, si se compara el diseño longitudinal con el diseño transversal se concluye que el primer análisis es más eficiente y estadísticamente más potente que el segundo (Edwards, 2000; Zeger y Liang, 1992).

PRODUCTOS DE LA TESIS

Ponencia oral

Cuellar-Sánchez A, Carrillo-González R, González-Chávez M C A, Delgado-Alvarado A, Suárez Espinosa J. “Hongos micorrízico arbusculares y *Ricinus communis* en la fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil”. VIII Simposio Nacional y V reunión Iberoamericana de la simbiosis micorrízica. Junio 2016 Oaxtepec, México.

Cuellar-Sánchez A, González-Chávez M C A, Carrillo-González R, Delgado-Alvarado A, Suárez Espinosa J, Solís-Domínguez F A, Maldonado-Mendoza I E. “Fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil con *Ricinus communis* y enmienda orgánica”. Congreso Internacional De Recursos Naturales, 4 al 7 de Abril 2016, Puerto Vallarta, Jalisco México.

Publicaciones

Cuellar-Sánchez A, Carrillo-González R, Delgado-Alvarado A, González-Chávez M C A (2016) Propiedades agroproductivas de *Ricinus communis* L. y caracterización fisicoquímica del aceite. Agroproductividad 9:73-78.

Cuellar-Sánchez A, Carrillo-González R, González-Chávez M C A, Delgado-Alvarado A, Suárez Espinosa J, Herrera-Cabrera B E, Solís-Domínguez F A, Maldonado-Mendoza I E (2016) Hongos micorrízicos favorecen la remediación de áreas contaminadas con Pb. *Agroproductividad* 9:63-64.



CONGRESO INTERNACIONAL DE RECURSOS NATURALES

Ciudad de México a 2 de marzo de 2016

Fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil con
Ricinus communis y enmienda orgánica

Cuellar-Sánchez A.¹, Carrillo-González R.¹, González-Chávez M.C.A.^{1*}, Delgado-Alvarado A.², Suárez Espinosa J.¹

¹ Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados; ² Campus Puebla, Colegio de Postgraduados. *carmeng@colpos.mx

El objetivo del trabajo fue evaluar el potencial de *Ricinus communis* (ricino) y una enmienda orgánica (vermicompost y aserrín) para la fitorremediación de Pb procedente de residuos de batería de automóvil. El suelo se analizó químicamente antes y después del establecimiento de las plantas (0 y 15 meses). En las hojas de *R. communis* se analizó la concentración de Pb, enzimas y compuestos osmoprotectores. La concentración total inicial y extractable de Pb en el suelo fue alta (41,893 y 6,246 mg kg⁻¹, respectivamente). La concentración de Pb extractable en la rizósfera de las plantas a los 15 meses fue 2,837 mg kg⁻¹. La sobrevivencia de las plantas fue 88% y en promedio tuvieron concentración de 159 mg kg⁻¹ de Pb en la parte aérea. La concentración de prolina y actividad de ascorbato peroxidasa fue estable a través del tiempo (2 μM g⁻¹ y 1 U mg⁻¹). Los resultados sugieren el uso potencial de ricino para la fitorremediación de suelos contaminados con residuos de baterías de autos.

Palabras clave: higuera, ricino, metales pesados, plomo.



VIII Simposio Nacional y V Reunión Iberoamericana de la Simbiosis Micorrízica, Oaxtepec, México, Junio de 2016

Hongos micorrízico arbusculares y *Ricinus communis* en la fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil

A. Cuellar-Sánchez¹, Ma. del Carmen A. González Chávez^{1*}, R. Carrillo-González¹, A. Delgado-Alvarado², J. Suárez Espinosa¹, Solís-Domínguez F.A.³ Maldonado-Mendoza I.E.⁴.

¹Postgrado en Edafología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Montecillo estado de México, México 56230. ²Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Colegio de Postgraduados Campus Puebla, México. ³Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ingeniería Baja California, México. ⁴Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR)-Unidad Sinaloa, Mexicali, México.*Autor para correspondencia: carmeng@colpos.mx

Introducción. El reciclaje de baterías de automóvil genera residuos peligrosos que contienen Pb. Se proponen técnicas biológicas útiles para el saneamiento de los suelos contaminados con ayuda de plantas y microorganismos. El **objetivo** fue evaluar cuatro hongos micorrízico arbusculares (HMA) con *Ricinus communis* L en la fitoestabilización de un sitio contaminado con residuos de batería de automóvil (RBA). La **hipótesis** fue que al menos un HMA favorecería la fitoestabilización de Pb en el sitio bajo estudio. **M&M.** Se diseñó un experimento completamente al azar con cuatro tratamientos de inoculación micorrízica (*Acaulospora* sp., *Gigaspora gigantea*, *Funneliformis mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp.) y un tratamiento sin inocular (testigo) con siete repeticiones cada uno. Todos los tratamientos recibieron enmienda orgánica (aserrín y vermicompost), la cual se mezcló con el suelo contaminado. Se realizaron tres muestreos a diferente edad de la planta (5, 10 y 15 meses) y se realizó un análisis longitudinal de los datos obtenidos. En el suelo rizosférico se analizó pH, concentración total (CT_{Pb}) y extractable con DTPA (DTPA_{Pb}). En el follaje de las plantas se determinó la concentración de Pb (Pb_{aérea}), así como la colonización micorrízica (CM). **Resultados y discusión.** La CT_{Pb} y DTPA_{Pb} inicial fue muy alta (41, 893 y 6, 246 mg kg⁻¹). Las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp., *G. gigantea* y *F. mosseae* BEG-25 sobrevivieron, pero 43% de las plantas testigo murieron. El pH rizosférico se redujo significativamente (8.4 a 7.8) en plantas inoculadas con tres HMA, pero no varió en las plantas testigo. *F. mosseae* BEG-25 redujo el DTPA_{Pb} (2,904 mg kg⁻¹), en comparación con el testigo y las inoculadas con *Glomus* sp. (4,531 y 3,546 mg kg⁻¹). Las plantas testigo acumularon mayor concentración de Pb_{aérea} (234 mg kg⁻¹) que las plantas inoculadas con *Acaulospora* sp. (70 mg kg⁻¹). La máxima CM de las plantas inoculadas fue 44% y en las testigo la CM por otros HMA fue 22%. **Conclusión** *F. mosseae* BEG-25 y *Acaulospora* sp. asociados a *R. communis* tienen potencial para estabilizar Pb en suelos contaminados con RBA.

PROPIEDADES AGROPRODUCTIVAS DE *Ricinus communis* L. Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE

AGROPRODUCTIVE PROPERTIES OF *Ricinus communis* L. AND PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ITS OIL

Cuellar-Sánchez A.¹; Carrillo-González R.¹; Delgado-Alvarado A.²; González-Chávez M. del C.A.^{1*}

¹ Posgrado en Edafología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5 carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 56230. Tel. 01(595) 952-0200 Ext. 1264. ² Posgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25. Santiago Momoxpan, Municipio San Pedro Cholula, Estado de Puebla. CP 72760 Puebla, Puebla, México. Tel. 01(222) 285-1442 Ext. 2026.

*Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Se determinaron propiedades agroproductivas de siete accesiones de *Ricinus communis* L. y características fisicoquímicas de su aceite como materia prima de biodiesel. La accesión SF6 tuvo mayor número de racimos (34), número de cápsulas (1453), peso de cápsula por planta (1324 g), cáscara (69%) y aceite (48%) pero menor tamaño de semilla (6.8 mm de diámetro medio geométrico). Las semillas de la accesión C fueron de tamaño mayor (74 g y 95 mL por 100 semillas), sin embargo, tuvo menor rendimiento de semilla (326 g por planta). Las accesiones Mir y SF7 obtuvieron el mayor peso de cápsulas por planta (1518 y 1595 g), semilla (49%), rendimiento de semilla (742 y 796 g) y rendimiento estimado de semilla (808 y 867 kg ha⁻¹). En cuanto a características fisicoquímicas del aceite de ricino las accesiones de C, SF7 y M2 estuvieron dentro de los estándares de calidad, sin embargo, la SF7 (proveniente de sitios contaminados con residuos de minería) destacó por su elevada producción estimada de aceite (362 kg ha⁻¹); registrando propiedades fisicoquímicas adecuadas para producción de biodiesel: densidad relativa (0.96 g mL⁻¹), viscosidad (410.7 cSt), índices de refracción (1.47), de yodo (83.5 g I₂ 100 g⁻¹) y de saponificación (184.1 mg g⁻¹), que hacen recomendable su producción para biodiesel.

Palabras clave: aceite de ricino, biodiesel, higuerrilla, morfología, rendimiento.

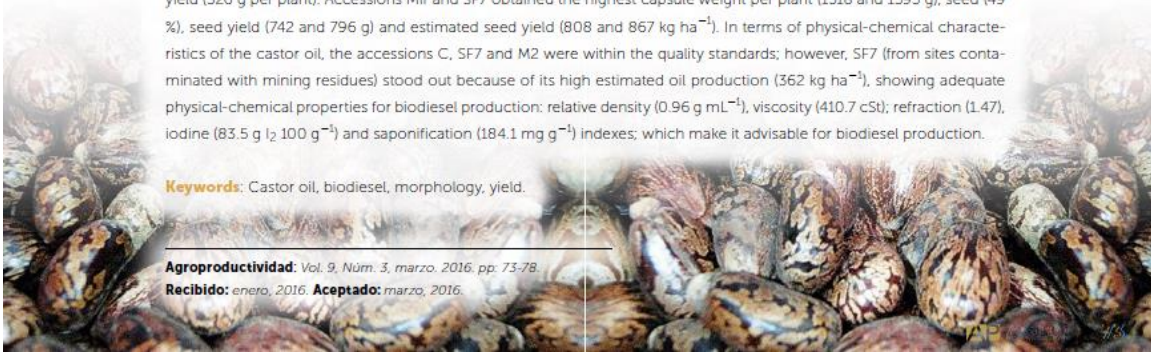
ABSTRACT

Agroproductive properties from seven accessions of *R. communis* L., and physical-chemical characteristics of their oil as raw matter for biodiesel, were determined. The accession SF6 had a greater number of racemes (34), number of capsules (1453), weight of the capsule per plant (1324 g), skin (69 %) and oil (48 %), but smaller size of the seed (6.8 mm of mean geometric diameter). The seeds from accession C were larger (74 g and 95 mL for 100 seeds); however, it had lower seed yield (326 g per plant). Accessions Mir and SF7 obtained the highest capsule weight per plant (1518 and 1595 g), seed (49 %), seed yield (742 and 796 g) and estimated seed yield (808 and 867 kg ha⁻¹). In terms of physical-chemical characteristics of the castor oil, the accessions C, SF7 and M2 were within the quality standards; however, SF7 (from sites contaminated with mining residues) stood out because of its high estimated oil production (362 kg ha⁻¹), showing adequate physical-chemical properties for biodiesel production: relative density (0.96 g mL⁻¹), viscosity (410.7 cSt); refraction (1.47), iodine (83.5 g I₂ 100 g⁻¹) and saponification (184.1 mg g⁻¹) indexes; which make it advisable for biodiesel production.

Keywords: Castor oil, biodiesel, morphology, yield.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 3, marzo, 2016, pp. 73-78.

Recibido: enero, 2016. **Aceptado:** marzo, 2016.



HONGOS MICORRIZICOS FAVORECEN LA REMEDIACIÓN DE AREAS CONTAMINADAS CON PLOMO

Cuellar-Sánchez, A.¹; Carrillo-González, R.¹; González Chávez, M. Del C.^{1*}; Delgado-Alvarado, A.²; Suárez Espinosa, J.¹; Herrera-Cabrera, B.E.²; Solís Domínguez, F.³; Maldonado-Mendoza, I.⁴

¹Postgrado en Edafología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México, México 56230. ²Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Campus Puebla, Colegio de Postgraduados. ³Facultad de Ingeniería Universidad Autónoma de Baja California, 4CIIIDIR-Instituto Politécnico Nacional, Guasave, Sinaloa.

*Autor para correspondencia: carmeng@colpos.mx

Problema

El reciclaje de baterías de automóvil genera residuos peligrosos que contienen plomo (**Pb**). En los países donde se realiza esta práctica sin seguir protocolos seguros, se generan graves problemas de contaminación del suelo, agua y aire. El **Pb** se considera una sustancia de alto riesgo prioritario que tiene impacto negativo para el ser humano y el ambiente. Se han establecido diferentes métodos físicos y químicos para remediar sitios contaminados, sin embargo, son costosos y de complicada implementación. La fitorremediación asistida, con mi-

croorganismos representa una alternativa de fácil ejecución, bajo costo y amigable con la naturaleza.

Solución planteada

Se desarrolló una tecnología para la remediación de áreas contaminadas con residuos de batería de automóvil (RBA), inoculando plantas de *Ricinus communis* L. con los hongos micorrízico arbusculares (HMA): *Acaulospora* sp., *Gigaspora gigantea*, *Funneliformis mosseae* BEG-25 y *Glomus* sp., (Figura 1). Las semillas de *R. communis* se inoculan con esporas (40) y raíces de



Figura 1. Metodología para determinar el efecto de la inoculación de *Ricinus communis* con hongos micorrízico arbusculares en la remediación de áreas contaminadas por residuos de baterías ácidas de automóvil.

Agroproductividad. Suplemento, noviembre, 2016. pp: 63-64.

Recibido: julio, 2016. **Aceptado:** octubre, 2016.