



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

EDAFOLOGÍA

**DISPONIBILIDAD DE Pb, Cd Y Ni POR LA ADICIÓN
DE FÓSFORO Y AZUFRE EN SUELOS REGADOS
CON AGUA RESIDUAL, EN EL VALLE DEL
MEZQUITAL, HIDALGO**

MARTIN SOLÍS MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, MÉXICO.

2014

La presenta la tesis titulada "Disponibilidad de Pb, Cd y Ni por la adición de fósforo y azufre en suelos regados con agua residual, en el valle del Mezquital, Hidalgo" realizada por el alumno: Martín Solís Martínez, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA**

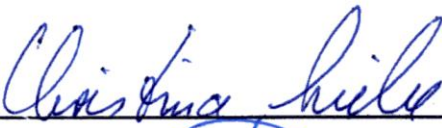
CONSEJO PARTICULAR

Consejero




Dr. Rogelio Carrillo González

Asesor



Dra. Christina Siebe-Grabach

Asesor




Dr. Antonio Vázquez Alarcón

Asesor



Dra. María de Lourdes de la Isla de Bauer

Asesor



Dr. Aristeo Barrios Avala

Montecillo, Mpio. de Texcoco, México



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

EDAFOLOGÍA

**DISPONIBILIDAD DE Pb, Cd Y Ni POR LA ADICIÓN
DE FÓSFORO Y AZUFRE EN SUELOS REGADOS
CON AGUA RESIDUAL, EN EL VALLE DEL
MEZQUITAL, HIDALGO**

MARTIN SOLÍS MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, MÉXICO.

2014

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca económica otorgada durante la realización de mis estudios de postgrado.

Al Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO) por haberme otorgado la oportunidad de continuar con mi formación académica y por el apoyo económico recibido.

Al Colegio de Postgraduados, por ser partícipe de mi formación académica y profesional.

A mis profesores del Colegio de Postgraduados, por transmitirme sus conocimientos y experiencias.

A los integrantes de mi Consejo Particular:

Dr. Lenom J. Cajuste (†) por todas sus enseñanzas, por su gran apoyo para iniciar el presente trabajo y por su invaluable amistad. *In memoriam.*

Dr. Rogelio Carrillo González, por su excelente dirección para culminar este trabajo y por su extraordinaria amistad.

Dr. Antonio Vázquez Alarcón, por sus observaciones, consejos y ayuda en la revisión del presente escrito.

Dra. María de Lourdes de la Isla de Bauer y Dra. Christina Siebe-Grabach, por sus comentarios y revisión detallada del trabajo.

Dr. Aristeo Barrios Ayala, por su valioso apoyo en los aspectos estadísticos y revisión de la presente investigación.

Al personal del laboratorio de Química, por la gran amistad que me brindaron durante esta etapa de mi vida.

A mis amigos, compañeros y a todas aquellas personas que fueron copartícipes de esta gran tarea.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y bendecirme en cada actividad de mi vida.

A mis padres: José Solís Guadarrama (†) y Macaria Martínez Álvarez (†), por haberme inculcado grandes valores y la fortaleza para superarme a pesar de las adversidades. Donde quiera que se encuentren.

A mi esposa Salomé, a mis hijos, Martín Gerardo, René Omar y Karla Samara: gracias por su comprensión y paciencia cuando las cosas no resultaban. Con todo mi amor.

A mis hermanos: Felipa, Estela, Pedro, Minerva y Edith.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS EN EL TEXTO	iii
ÍNDICE DE FIGURAS EN EL TEXTO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS EN EL APÉNDICE	vii
RESUMEN	ix
SUMMARY.....	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Definición de metales pesados.....	3
2.2 Los metales pesados en el suelo.....	3
2.3 Factores y mecanismos que controlan la biodisponibilidad y absorción de los EPT	5
2.4 Reacciones que controlan la solubilidad de los metales pesados en el suelo	8
2.4.1 Intercambio iónico sobre capas silicatadas.....	9
2.4.2 Quimisorción sobre superficies minerales.....	10
2.4.3 Procesos redox que afectan la solubilidad del metal	13
2.4.3.1 Oxidación de metales por óxidos metálicos	13
2.4.3.2 Adsorción de metales por la materia orgánica	14
2.4.3.3 Especiación de metales en solución.....	16
2.4.3.4 Reacciones biológicas.....	18
2.5 Formas de extracción de EPT	20
2.6 Características generales de Pb, Cd y Ni.....	22
2.7 Proceso de absorción y translocación de los EPT por las raíces de las plantas	26
2.8 Absorción del Pb, Cd y Ni por las raíces de las plantas.....	28
2.9 Mecanismos de eliminación de EPT	30
2.10 Efecto de los EPT en plantas cultivadas.....	31
2.11 El azufre en el suelo y los metales pesados	36
2.11.1 Importancia.....	36
2.11.2 Formas	37
2.11.3 Procesos de óxido-reducción	37
2.11.4 Adsorción	38
2.12 El fósforo en el suelo y los EPT	38
2.12.1 Importancia.....	38
2.12.2 Especies de fosfato en la solución del suelo	39
2.13 Aspectos físico-químicos de la inmovilización de EPT por enmiendas al suelo.....	40
2.14 Aspectos generales del área de estudio.....	45
2.14.1 Propiedades de los suelos del valle del Mezquital, Hgo.....	46

	Página
3. OBJETIVOS	48
3.1 General.....	48
3.2 Específicos.....	48
4. HIPÓTESIS	49
5. MATERIALES Y MÉTODOS	50
5.1 Descripción del área de estudio	50
5.2 Descripción de las series de suelos	51
5.3 Muestreo de los sitios	54
5.4 Caracterización de los suelos.....	55
5.5 Experimentos en laboratorio	56
5.6 Experimentos en invernadero.....	58
5.7 Análisis estadístico	61
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
6.1 Muestreo de suelos	62
6.1.1 Primer muestreo	62
6.1.2 Segundo muestreo.....	65
6.2 Experimentos en el laboratorio.....	66
6.2.1 Incubación de los suelos con azufre	66
6.2.2 Incubación de los suelos con ortofosfato	69
6.2.3 Fraccionamiento de metales	72
6.2.3.1 Plomo.....	72
6.2.3.2 Cadmio.....	79
6.2.3.3 Níquel.....	84
6.3 Experimentación de invernadero	90
6.3.1 Incubación de las muestras de suelo con azufre	90
6.3.2 Incubación de los suelos con ortofosfato	92
6.4 Experimento con maíz	95
6.4.1 Contenido de plomo en maíz.....	98
6.4.2 Contenido de cadmio en maíz.....	99
6.4.3 Contenido de níquel en maíz.....	100
6.5 Experimento de alfalfa	103
6.5.1 Contenido de plomo en alfalfa.....	106
6.5.2 Contenido de cadmio en alfalfa.....	109
6.5.3 Contenido de níquel en alfalfa.....	112
6.6. Difractogramas.....	114
7. CONCLUSIONES	116
8. SUGERENCIAS	118
9. LITERATURA CITADA	119
10. APÉNDICE	133

ÍNDICE DE CUADROS EN EL TEXTO

		Página
CUADRO 1	Metodología empleada para determinar las características físicas y químicas de las muestras de suelo en estudio.....	55
CUADRO 2	Componentes de la solución nutritiva sin fósforo, empleada en el experimento de invernadero.....	59
CUADRO 3	Ubicación geográfica de los sitios muestreados en el valle del Mezquital, Hgo.....	62
CUADRO 4	Tamaño de partícula, pH y CE de las muestras de suelo colectadas en el valle del Mezquital, Hgo.....	63
CUADRO 5	Algunas variables fisicoquímicas de las muestras de suelo colectadas en el valle del Mezquital, Hgo.....	64
CUADRO 6	Metales totales y extractables de las muestras de tres suelos seleccionados del valle del Mezquital, Hgo.....	65
CUADRO 7	Valores de Fc para las diferentes fracciones de plomo y su interacción, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.....	73
CUADRO 8	Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de plomo (mg kg^{-1}), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.....	73
CUADRO 9	Valores de Fc para las diferentes fracciones de cadmio, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.....	79
CUADRO 10	Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de cadmio (mg kg^{-1}), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.....	79
CUADRO 11	Valores de Fc para las diferentes fracciones de níquel, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.....	85
CUADRO 12	Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de níquel (mg kg^{-1}) en tres suelos incubados con azufre y fósforo.....	85
CUADRO 13	Promedio de las variables y prueba de Tukey para la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE), en tres suelos incubados con azufre.....	91
CUADRO 14	Valores de Fc para pH y CE después de incubarse con fósforo durante dos semanas, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.....	94
CUADRO 15	Prueba de Tukey para la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.....	94
CUADRO 16	Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para las variables rendimiento de materia seca, P extractable y contenido de Pb, Cd y Ni en el tejido vegetal de maíz.....	96
CUADRO 17	Prueba de Tukey para las variables rendimiento de materia seca (g), concentración de Pb, Cd y Ni en tejido vegetal de maíz (mg kg^{-1}) y contenido de fósforo extractable en los suelos (mg kg^{-1}).....	97

	Página
CUADRO 18 Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para los diferentes cortes y rendimiento total de materia seca de alfalfa.....	104
CUADRO 19 Prueba de Tukey para las variables rendimiento de materia seca (g) en diferentes cortes y rendimiento total de alfalfa (g).....	105
CUADRO 20 Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de Pb en los diferentes cortes de alfalfa y P extractable del suelo.....	106
CUADRO 21 Prueba de Tukey para la concentración de plomo (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes y la concentración de fósforo extractable en el suelo.....	107
CUADRO 22 Concentración de algunos metales pesados en el cultivo de alfalfa.....	108
CUADRO 23 Valores de Fc, obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de Cd en los diferentes cortes de alfalfa.....	109
CUADRO 24 Prueba de Tukey para la concentración de cadmio (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes.....	110
CUADRO 25 Valores de Fc, obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de níquel en los diferentes cortes de alfalfa.....	112
CUADRO 26 Prueba de Tukey para la concentración de níquel (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes.....	113
CUADRO 27 Concentración de Pb, Cd y Ni en alfalfa, irrigada con agua residual en algunos sitios seleccionados en el valle del Mezquital, Hgo.....	114

ÍNDICE DE FIGURAS EN EL TEXTO

		Página
FIGURA 1	Vías de absorción del Pb, Cd y Ni en las raíces de las plantas (Adaptado de Taíz y Zeiger, 1991).....	27
FIGURA 2	Ubicación del área de estudio y los sitios de muestreo.....	50
FIGURA 3	Muestreo de los sitios seleccionados.....	54
FIGURA 4	Cultivos de maíz blanco y alfalfa valenciana.....	58
FIGURA 5	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE), en cuatro suelos incubados con azufre.....	67
FIGURA 6	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 1, incubado con fósforo.....	70
FIGURA 7	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 3, incubado con fósforo.....	70
FIGURA 8	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 4, incubado con fósforo.....	71
FIGURA 9	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 13, incubado con fósforo.....	71
FIGURA 10	Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 1.....	74
FIGURA 11	Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 4.	75
FIGURA 12	Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 13.	76
FIGURA 13	Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 1.	80
FIGURA 14	Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 4.	81
FIGURA 15	Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 13.	82
FIGURA 16	Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV, FV, en el sitio 1.	86
FIGURA 17	Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV, FV, en el sitio 4.	87
FIGURA 18	Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV, FV, en el sitio 13.	88
FIGURA 19	Establecimiento en el invernadero, de los cultivos de maíz blanco y alfalfa valenciana.....	90
FIGURA 20	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) en tres suelos incubados con azufre.....	91
FIGURA 21	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 1, incubado con fósforo.....	92
FIGURA 22	Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 4, incubado con fósforo.....	93

	Página
FIGURA 23 Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 13, incubado con fósforo.....	93
FIGURA 24 Cultivo de maíz blanco al momento de la cosecha.....	95
FIGURA 25 Cultivo de alfalfa valenciana al momento de la cosecha del último corte.....	104

ÍNDICE DE CUADROS EN EL APÉNDICE

		Página
CUADRO 1A	Coeficientes de correlación Pearson, de algunas propiedades físicas y químicas de trece muestras de suelo colectadas en diferentes sitios en el valle del Mezquital, Hgo.....	134
CUADRO 2A	Reacción del suelo (pH) de los suelos incubados con azufre a 38°C durante cinco semanas.....	135
CUADRO 3A	Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹) de los suelos incubados con azufre a 38°C durante cinco semanas.....	135
CUADRO 4A	Reacción del suelo y conductividad eléctrica promedio, en cuatro suelos incubados con dosis de azufre, durante cinco semanas.....	136
CUADRO 5A	Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.....	136
CUADRO 6A	Reacción del suelo y conductividad eléctrica, en húmedo y en seco, en los sitios 1 y 2, incubados con dosis crecientes de azufre y fósforo.....	137
CUADRO 7A	Reacción del suelo y conductividad eléctrica, en húmedo y en seco, en los sitios 4 y 13, incubados con dosis crecientes de azufre y fósforo.....	138
CUADRO 8A	Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.....	139
CUADRO 9A	Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Pb con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.....	140
CUADRO 10A	Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Cd con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.....	141
CUADRO 11A	Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Ni con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.....	142
CUADRO 12A	Reacción del suelo y conductividad eléctrica de tres sitios, dos y cuatro semanas después de la aplicación de azufre.....	143
CUADRO 13A	Reacción del suelo y conductividad eléctrica de tres suelos, dos semanas después de la aplicación de los tratamientos con fósforo.....	143
CUADRO 14A	Rendimiento de materia seca (g), concentración de fósforo extractable (mg kg ⁻¹) en los suelos, contenido de plomo, cadmio y níquel (mg kg ⁻¹) en tejido de maíz, en condiciones de invernadero.....	144
CUADRO 15A	Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.....	144

	Página
CUADRO 16A Rendimiento total de materia seca de alfalfa (g) y en diferentes cortes, y contenido de fósforo extractable (mg kg^{-1}) en los suelos cultivados con alfalfa.....	145
CUADRO 17A Concentración de plomo en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.....	145
CUADRO 18A Concentración de cadmio en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.....	146
CUADRO 19A Concentración de níquel en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.....	146
CUADRO 20A Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de plomo y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.....	147
CUADRO 21A Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de cadmio y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.....	148
CUADRO 22A Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de níquel y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.....	149
CUADRO 23A Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 1 después de la aplicación de azufre y fósforo.....	150
CUADRO 24A Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 4 después de la aplicación de azufre y fósforo.....	151
CUADRO 25A Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 13 después de la aplicación de azufre y fósforo.....	152

DISPONIBILIDAD DE Pb, Cd Y Ni POR LA ADICIÓN DE FÓSFORO Y AZUFRE EN SUELOS REGADOS CON AGUA RESIDUAL, EN EL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO

Martín Solís Martínez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la adición de azufre y fósforo sobre la extractabilidad de Pb, Cd y Ni, y en la biodisponibilidad para maíz y alfalfa en el valle del Mezquital, Hidalgo. Se muestrearon los suelos de 13 sitios, se caracterizaron física y químicamente y se determinaron los elementos potencialmente tóxicos totales y extractables. De estos suelos se seleccionaron tres (Atitalaquia, Tlahuelilpan y Tepatepec) para establecer experimentos de equilibrio en el laboratorio. Los suelos se incubaron con dosis crecientes de azufre (0, 2, 4 y 6 t ha⁻¹) y fósforo (0, 250, 500, 1000 y 2000 mg L⁻¹), durante cinco y dos semanas, respectivamente. Se cuantificó la concentración de Pb, Cd y Ni, unidos a las diferentes fracciones del suelo (soluble, FI; intercambiable, FII; carbonatos, FIII; óxidos, FIV; materia orgánica, FV, y residual, FVI). En el caso del plomo, las fracciones FVI, FIV y FIII fueron las más estables en los tres suelos. El tipo de suelo, así como la adición de azufre y fósforo, afectaron significativamente a la FII. Las fracciones de Cd más estables resultaron ser FVI, FII y FV. La adición de S y P a los suelos disminuyó el contenido de Cd en la fracción ligada a los carbonatos (FIII). Las fracciones de níquel FVI, FV y FIII fueron las más estables en los tres sitios. Al aplicar azufre y fósforo a los suelos, se observó un incremento en las fracciones FI, FII y FV. Con base en los experimentos del laboratorio, se seleccionaron los tratamientos 0 y 2 t ha⁻¹ de azufre, y 0, 1000 y 2000 mg L⁻¹ de fósforo, para realizar el experimento en invernadero y evaluar la biodisponibilidad de los metales para maíz blanco y alfalfa valenciana. Los tres suelos se incubaron con azufre y fósforo durante cuatro y dos semanas, respectivamente. Las plantas que crecieron en distintos suelos tuvieron diferente contenido de plomo y cadmio. La concentración de Ni en maíz sobrepasó los intervalos considerados como normales para los cultivos. La adición de azufre y fósforo redujo el contenido de Pb en la alfalfa; incrementó el contenido de Cd y Ni, pero disminuyó el rendimiento total de materia seca. El tipo de suelo influyó en la concentración de Pb, Cd y Ni en el tejido de alfalfa. Se seleccionaron y analizaron por difracción de rayos x algunas muestras de suelo con diferentes tratamientos de azufre y fósforo, identificando diversos minerales conteniendo Pb, Cd y Ni.

Palabras clave: elementos potencialmente tóxicos, extracción secuencial, alfalfa, maíz, difracción de rayos x.

AVAILABILITY OF Pb, Cd and Ni BY THE ADDITION OF PHOSPHORUS AND SULFUR SOILS IRRIGATED WITH WASTE WATER, IN THE MEZQUITAL VALLEY, HIDALGO

Martín Solís Martínez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014.

SUMMARY

The effect of the addition of sulfur and phosphorus on the extractability of Pb, Cd and Ni were evaluated, and bioavailability to corn and alfalfa in the Mezquital Valley, Hidalgo. Soils were sampled 13 sites were characterized physically and chemically extractable and total and potentially toxic elements were determined. Of these soils three (Atitalaquia, Tlahuelilpan and Tepatepec) were selected to establish equilibrium experiments in the laboratory. Soils were incubated with increasing doses of sulfur (0, 2, 4 and 6 t ha⁻¹) and phosphorus (0, 250, 500, 1000 and 2000 mg L⁻¹) for five and two weeks, respectively. The concentration of Pb, Cd and Ni was quantified, it attached to the different soil fractions (soluble, FI; interchangeable, FII, carbonates, FIII, oxides, FIV, organic matter, FV, and residual, FVI). In the case of lead, the FVI, FIV and FIII fractions were more stable in the three soils. The type of soil and the addition of sulfur and phosphorus significantly affect FII. Fractions were found to be more stable Cd FVI, FII and FV. The addition of S and P to soils decreased Cd content in the carbonate bound fraction (FIII). FVI nickel fractions, FV and FIII were most stable at the three sites. By applying nitrogen and phosphorus to the soil, an increase was observed in FI, FII and FV fractions. Based on laboratory experiments, treatments 0 were selected and 2 t ha⁻¹ sulfur, and 0, 1000 and 2000 mg L⁻¹ phosphorus to make the greenhouse experiment and evaluate the bioavailability of metals on white corn and valenciana alfalfa. The three soils were incubated with sulfur and phosphorus for four and two weeks respectively. Plants grown in different soils showed different content of lead and cadmium. The Ni concentration in maize surpassed intervals considered normal for crops. The addition of sulfur and phosphorus reduced the Pb content in alfalfa increased the content of Cd and Ni, but decreased the total dry matter yield. Soil type influenced the concentration of Pb, Cd and Ni in the tissue of alfalfa. Were selected and analyzed by x-ray diffraction soil samples with different treatments of sulfur and phosphorus, identifying various minerals containing Pb, Cd and Ni.

Keywords: potentially toxic elements, sequential extraction, alfalfa, corn, x-ray diffraction.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de aguas residuales en las tierras agrícolas para riego es una práctica que ha recibido la atención de muchos investigadores. La utilización de este tipo de aguas es una práctica benévola en regiones como el valle del Mezquital, donde la escasa precipitación, de apenas 502 mm en promedio anual, es el principal factor limitativo de la producción. Sin embargo, su uso sin ningún tratamiento previo, las convierte en una fuente potencial de contaminación del suelo por elementos potencialmente tóxicos (EPT) y para las plantas que en él crecen, introduciéndose a través de esos cultivos a la cadena trófica.

Elemento Potencialmente Tóxico (EPT), es un término general que incluye a todos aquellos elementos esenciales, tóxicos o traza, que a bajas concentraciones son inocuos pero llegan a ser tóxicos para la biota.

Algunos de estos EPT pueden persistir en los suelos debido a su inmovilidad; mientras que otros emigran a través del perfil del suelo (Mench *et al.*, 1994). El entendimiento de la función de procesos que controlan la solubilidad y movilidad de los EPT en los suelos y de los factores que afectan, como pH, contenidos de arcilla, materia orgánica, composición mineralógica y carbonato libre (Boisson *et al.*, 1999), es de suma importancia. Esta información es básica para disminuir el riesgo que involucra la absorción del metal por la planta.

En diversas investigaciones realizadas en el valle del Mezquital, Hgo., (Carrillo *et al.*, 1993; Siebe, 1994, 1997; Siebe y Cifuentes, 1995; Cajuste *et al.*, 1998) se menciona el grado de contaminación, acumulación y distribución de EPT, como Pb, Cd, Cr, Ni, Cu y Zn en suelos irrigados con aguas residuales sin tratar, provenientes de la Ciudad de México y área Metropolitana. También indican el efecto sobre los seres vivos cuando estos elementos exceden los límites de concentración permisibles.

La adición de enmiendas químicas, sintéticas o naturales a los suelos contaminados, permite cambiar sus propiedades fisicoquímicas y la forma química de los elementos, por ejemplo para inducir la adsorción y precipitación. Con esto podría ocurrir un menor transporte a las capas más profundas del suelo y a las aguas subterráneas y se reduciría la cantidad disponible para las plantas.

Entre los procedimientos reportados para manejar estos suelos están la inundación y diversas formas de inmovilización: sorción, intercambio iónico y precipitación. La inmovilización de EPT es una tecnología prometedora para remediar los suelos contaminados.

Sin embargo, se han realizado pocos trabajos sobre recuperación de suelos con problemas de contaminación con EPT mediante la adición de productos químicos, para inducir la formación de minerales poco solubles. Por estas razones, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la adición de azufre y fosfatos sobre la extractabilidad de elementos potencialmente tóxicos, así como la biodisponibilidad evaluada mediante los cultivos de maíz y alfalfa.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Definición de metales pesados

El término metales pesados se refiere a los metales con una densidad mayor a 5 g cm^{-3} (Wild, 1993). De acuerdo con esta definición, Pb, Cd y Ni, se consideran metales pesados por presentar densidades de 11.3, 8.7 y 8.9 g cm^{-3} , respectivamente. Por otra parte, el vocablo se emplea en forma peyorativa para referirse a elementos potencialmente tóxicos para los humanos, y que son muy utilizados en la industria. Ejemplos de estos elementos son As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, In, Ni, Pb, Sb, Se, Te, Tl, V y Zn (Alloway, 1995). Adriano (2001) menciona el término elemento traza para referirse a elementos que están presentes en ambientes naturales y perturbados en pequeñas cantidades y que, cuando se presentan en concentraciones biodisponibles elevadas, son tóxicos para los organismos vivos.

Elemento Potencialmente Tóxico (EPT), es un término general que incluye a todos aquellos elementos esenciales, tóxicos o traza, que a bajas concentraciones son inocuos pero llegan a ser tóxicos para la biota (Adriano, 2001). En el presente trabajo se utilizarán los términos metal pesado y elementos potencialmente tóxicos (EPT) para hacer referencia a los elementos Pb, Cd y Ni.

2.2 Los metales pesados en el suelo

El suelo es un componente de la geósfera que actúa como una depresión geoquímica para los contaminantes; también funciona como un amortiguador natural que controla el transporte de elementos químicos y sustancias a la atmósfera, hidrosfera y biota. Kabata-Pendias y Pendias (2000) mencionaron que los elementos traza pueden finalmente afectar el funcionamiento del suelo y su destino depende de las propiedades físicas y químicas del mismo.

La persistencia de contaminantes en el suelo es mucho más larga que en otros componentes de la biósfera, por esto, la contaminación del suelo, especialmente por EPT, parece ser permanente (Kabata-Pendias y Pendias, 2000). Los metales acumulados en los suelos son disminuidos lentamente por absorción por la planta, erosión, y en menor grado por lixiviación.

El uso intensivo de la tierra en países industrializados, especialmente en Europa y Norte América, ha estresado a los suelos con el continuo y frecuente ingreso de fertilizantes, agroquímicos y enmiendas al suelo (Adriano, 2001). La masa total de los EPT en los suelos agrícolas es la suma del elemento de origen geogénico más el que ingresa por deposición atmosférica y por la adición de fertilizantes, biosólidos, plaguicidas y aguas de desecho no tratadas que los contengan.

Los fertilizantes fosfatados y los sedimentos de aguas negras son considerados las fuentes más importantes de contaminación por EPT en terrenos agrícolas. Esto es particularmente cierto para cadmio (Adriano, 2001). Los fertilizantes elaborados de fosfatos magmáticos contienen sólo insignificantes concentraciones de cadmio, mientras que los elaborados con fosfatos sedimentarios contienen niveles altos.

Tanto la contaminación por EPT como la precipitación ácida en los suelos son una manifestación de perturbaciones causadas por actividades humanas. El incremento en la acidez resulta de la intensa producción oxidativa de los ácidos de Brönsted, como el H_2SO_4 y HNO_3 agotando la capacidad de neutralización de las bases en los ecosistemas. La contaminación por metales introduce cantidades excesivas de ciertos metales ácidos de Lewis a los ecosistemas (Streit y Stumm, 1993). La consecuencia ecológica de este último proceso es una función de los tipos y las cantidades de bases de Lewis, la condición redox (Eh) y el pH. La precipitación ácida conduce a valores de pH más bajos, mejorando en muchos casos la solubilidad y biodisponibilidad de los iones metálicos en la solución del suelo.

Ross y Kaye (1994), señalaron que en sistemas suelo-planta, el interés está en la definición de la toxicidad y fitotoxicidad del metal bajo condiciones “naturales” de campo. La toxicidad se define como un efecto venenoso sobre un organismo vivo.

Las principales fuentes de los EPT son: (i) aerosoles industriales urbanos, ocasionados por la combustión de hidrocarburos, refinación de minerales metálicos y otros procesos industriales (ii) desechos líquidos y sólidos de animales y del hombre, (iii) desechos de minas, o (iv) químicos agrícolas e industriales (Alloway, 1995). A pesar de que en algunas circunstancias existen entradas atmosféricas directas a las plantas, la adición al suelo y la subsecuente transferencia hacia la planta, es para la mayoría de los EPT la mejor ruta de entrada hacia los tejidos de las plantas y animales, incluyendo al hombre.

La contaminación regional de los suelos, como se reporta comúnmente, ocurre principalmente en regiones industriales y en donde fábricas, vehículos de motor y desechos municipales son las fuentes más importantes de los EPT. En suelos agrícolas el uso de fertilizantes fosfatados inorgánicos durante largo plazo incrementa sustancialmente los niveles naturales de cadmio (Cd) y flúor (F), mientras que otros elementos como As, Cr, Pb y V no se incrementan significativamente (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

2.3 Factores y mecanismos que controlan la biodisponibilidad y absorción de los EPT

Existen procesos físicos, químicos y biológicos que controlan la movilidad de los EPT en los suelos. El primer gran grupo considera los procesos fisicoquímicos que promueven mecanismos tales como la solubilidad y precipitación, adsorción, complejación y oclusión/encapsulación. El proceso que secuestra a los EPT se denomina sorción, el cual, en gran manera, determina la división entre la fase sólida y la solución (Carrillo-González *et al.*, 2006).

La mayoría de los EPT en los suelos generalmente están asociados con la fase sólida, unidos a la superficie de los sólidos del suelo, precipitados como minerales o simplemente estar coprecipitados de varias formas (Carrillo-González *et al.*, 2006). De la mayoría de EPT, sólo una pequeña porción está disuelta en la solución del suelo; la mayoría de EPT disueltos está unida a ácidos orgánicos en la solución del suelo, el resto está distribuido como pares de iones inorgánicos y como iones libres.

La correlación entre la concentración del metal en el tejido vegetal y la concentración en el suelo dependen del ambiente físico-químico del suelo y las especies de plantas. Las aproximaciones para predecir la concentración en el tejido a partir de la concentración en el suelo o viceversa, utilizan procedimientos especiales de extracción del suelo, de manera que se trata de simular la capacidad de extracción de los EPT por la planta. Diversos trabajos se han desarrollado para conocer la relación entre los extractantes del suelo y las concentraciones de la planta o los tipos de absorción, para definir químicamente las fracciones del suelo, como la intercambiable y la ligada a la materia orgánica (McBride, 1994), por mencionar algunas.

Streit y Stumm (1993) mencionaron además, que cuando se correlacionan las concentraciones de los EPT en el tejido de la planta con las concentraciones en el extracto del suelo, la mejor correlación se presenta cuando se utilizan extractantes moderados como el acetato de amonio (pH 4.8 o 7.0), el ácido acético 0.43 mol/L o el ácido etilendiamino tetracético (EDTA) a pH 7, que empleando reactivos más agresivos como el HCl 1 mol/L frío o caliente.

La especiación química ha sido definida, en forma general, como el proceso de identificación y cuantificación de las formas químicas de un mismo elemento en una muestra dada. Para realizar la especiación química, comúnmente se emplea un procedimiento de extracción, simple o secuencial. En esta técnica, se aplican secuencialmente diferentes extractantes químicos a una misma muestra y cada etapa proporciona condiciones más drásticas de extracción con respecto a la anterior (González *et al.*, 2009).

Durante los últimos 30 años se han desarrollado una gran variedad de métodos de extracción. Sin embargo, el amplio intervalo de procedimientos usados, hace que los resultados obtenidos en diferentes estudios sean difícilmente comparables por las condiciones de operación tan variables de cada método (Chlopecka *et al.*, 1996; Kaasalainen y Yli-Halla, 2003; Kim *et al.*, 2006; Walter *et al.*, 2006).

Conocer la concentración total de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en suelos contaminados proporciona información muy limitada sobre el comportamiento y el destino de estos elementos. El contenido total se encuentra repartido en distintas fracciones o formas químicas. La determinación de la concentración de metales pesados en las diferentes fases sólidas presentes en el suelo (orgánica y mineral) puede ser más útil para conocer su distribución y predecir su comportamiento, lo cual incluye la solubilidad, la movilidad, la biodisponibilidad y por lo tanto, la toxicidad (González-Flores *et al.*, 2011).

La correlación entre alguna fracción extractada de los EPT y la concentración en el tejido para diferentes EPT, generalmente es mucho mejor que la correlación entre la cantidad total o extractable con ácidos o bases fuertes (Streit y Stumm, 1993).

Se ha buscado la asociación del contenido de los EPT en distintos tejidos y especies vegetales con la cantidad extraída por varios procedimientos, con el fin de encontrar un extractante confiable para predecir la biodisponibilidad. Esto depende de que se encuentre una correlación positiva entre la absorción por la planta y la actividad en la solución del suelo (Sposito, 2008). Por lo tanto, un elemento se denomina biodisponible: (1) si está presente o puede ser transformado fácilmente a una forma absorbible por la planta como un ión y, (2) si puede moverse hacia las raíces de la planta en un tiempo que sea apropiado para el crecimiento y desarrollo de la planta.

2.4 Reacciones que controlan la solubilidad de los metales pesados en el suelo

La concentración de EPT difiere enormemente entre los tipos de rocas, y debido a que las propiedades del suelo están influenciadas por su material parental, la concentración en los suelos también varía de manera significativa (Wild, 1993). En rocas ígneas los elementos se incorporan en la estructura de los minerales cuando el magma se cristaliza.

La concentración en rocas sedimentarias está determinada parcialmente por los minerales que contienen y por la adsorción del agua donde se deposita el sedimento (Wild, 1993).

Los suelos también reciben elementos químicos provenientes de volcanes activos, por ejemplo arsénico, flúor, mercurio y selenio, los cuales pueden representar un peligro (Alloway, 1995). De mayor interés, empero, son las emisiones de metales del ambiente como resultado de las actividades del hombre (Wild, 1993). Las emisiones de la industria y los desechos domésticos son las mayores fuentes antropógenas.

Debido a que en la actualidad el uso del suelo se está incrementando con propósitos no agrícolas, la frecuencia y extensión de la contaminación del suelo por los EPT aumenta (McBride, 1989). Las relaciones empíricas pueden reemplazarse por el entendimiento fundamental de los procesos que controlan la solubilidad del metal en el suelo, para prevenir prácticas que pudieran tener efectos nocivos sobre la productividad del suelo y la calidad del medio ambiente.

La investigación sobre suelos que se realiza en el campo y en laboratorio generalmente es a corto plazo; no obstante, el destino final de los metales adicionados al suelo, sólo se puede determinar de manera directa con experimentos a largo plazo (Wild, 1993).

Se han realizado pocos estudios sobre las interacciones químicas entre elementos que pueden ser muy significativas en la modificación de la solubilidad del metal, como es la formación de minerales (Wild, 1993).

Como ya se mencionó, existen varios factores que influyen en la solubilidad de los EPT de los suelos (McBride, 1989), entre los cuales los más conspicuos se discuten a continuación:

2.4.1 Intercambio iónico sobre capas silicatadas

La capacidad de intercambio iónico de un suelo es el número máximo de moles de carga iónica adsorbida que puede desorberse desde la unidad de masa del suelo bajo condiciones dadas de temperatura, presión, composición de la solución del suelo y relación de masa suelo-solución (Sposito, 2008).

Los sitios de carga permanente de las capas de arcilla silicatadas retienen cationes metálicos mediante fuerzas electrostáticas no específicas y, en ausencia de condiciones que pudieran favorecer la hidrólisis del metal (pH alto, por ejemplo), los cationes de transición divalentes (M^{2+}) y trivalentes (M^{3+}) y los metales pesados muestran un comportamiento típico de intercambio iónico sobre las capas silicatadas (Inskeep y Baham, 1983).

Los diagramas selectivos de intercambio iónico sugieren una preferencia muy alta de las arcillas por cationes de carga alta con una fuerza iónica baja. Un factor adicional que complica la cuantificación de la afinidad de los metales por las arcillas es el efecto de concentración de la partícula (Tan, 1998).

Los iones metálicos como Cu^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} compiten en desventaja numérica por los sitios de intercambio con el Ca^{2+} , Mg^{2+} y otros cationes. De hecho, se tiene evidencia de la adsorción específica de metales como Co^{2+} , Zn^{2+} y Cd^{2+} a niveles muy bajos de adsorción sobre capas de arcillas silicatadas. Esto puede indicar la presencia de pocos sitios capaces de quimisorber estos metales, posiblemente grupos $-\text{SiOH}$ o $-\text{AlOH}$ en el borde de la arcilla, o sitios asociados con óxidos e impurezas orgánicas en las arcillas (Inskeep y Baham, 1983).

Los metales pesados y de transición poseen una tendencia a hidrolizarse mucho mayor que los metales alcalino térreos, debido a su estructura electrónica (Mench *et al.*, 1998). Las soluciones con metales pesados y de transición adicionadas a las arcillas, inducen a una disminución del pH, lo cual es atribuido a la elevada hidrólisis de los metales.

2.4.2 Quimisorción sobre superficies minerales

La fase sólida del suelo se compone esencialmente de arcillas, óxidos metálicos y material orgánico y en la mayoría de los casos tiene un exceso de carga negativa (Streit y Stumm, 1993). Esto conduce a un potencial de superficie y determina la distribución de cationes y aniones en la fase líquida. La difusión y la atracción eléctrica en la solución son dos fuerzas que actúan sobre los cationes que están en equilibrio con la carga negativa de superficie.

La mayoría de los EPT en los suelos por lo general están asociados con la fase sólida, y pueden unirse a la superficie de los sólidos del suelo, o precipitarse como diversos minerales o simplemente ser coprecipitados dentro de varias formas (Carrillo-González *et al.*, 2006). Para la mayoría de los EPT, sólo una pequeña porción está disuelta en la solución del suelo; una gran cantidad de los EPT disuelta está unida a los ácidos orgánicos en la solución del suelo, el resto está distribuido como pares iónicos inorgánicos e iones libres.

Este ion libre acumulado usualmente es bastante pequeño en relación con los otros EPT acumulados, pero es el más reactivo química y biológicamente (Carrillo-González *et al.*, 2006).

La superficie de los silicatos de aluminio y de los óxidos hidratados, así como las superficies orgánicas puras que contienen grupos funcionales, actúan como sitios coordinados de superficie (Wu *et al.*, 2003). Estos grupos incluyen =MOH, =ROH, R-COOH (M simboliza al metal y R al resto orgánico). De esta forma, la concentración de los metales en la fase sólida es mucho mayor que en la solución (McBride, 1994) y por ello son menos biodisponibles.

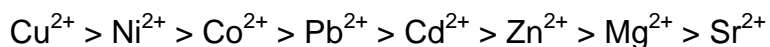
Se tienen pruebas de que los EPT que incluye a varios elementos de transición en los suelos, cuando se presentan en niveles traza, son retenidos por mucho tiempo en formas no intercambiables (Sparks, 1999). Los esquemas para la extracción completa del metal requieren de tratamientos extremos, incluyendo la degradación oxidativa de la materia orgánica y la disolución de los óxidos de Fe y Mn donde son atrapados. Los óxidos e hidróxidos metálicos, así como los aluminosilicatos amorfos, proveen sitios superficiales para la quimisorción de EPT (Wu *et al.*, 2003). Streit y Stumm (1994) señalaron que la evidencia indirecta para la formación de uniones superficie-metal incluye:

1. La liberación de dos iones H^+ por cada ión M^{2+} adsorbido
2. El alto grado de especificidad mostrado por los óxidos para determinados metales
3. Cambios en las propiedades de carga superficial de los óxidos como resultado de la adsorción.

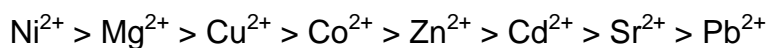
El último efecto se atribuye al incremento de la carga positiva superficial desarrollada por la quimisorción. McBride (1989) sugiere que la quimisorción podría depender del grado de cristalinidad y morfología superficial del adsorbente. Menciona además que los óxidos de Mn son notables por su alta selectividad para ciertos metales como Pb^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Ni^{2+} .

Considerada como el proceso más importante que controla la división de los metales entre las fases sólidas y acuosas en los suelos, la sorción puede representar los efectos combinados de intercambio iónico, adsorción específica, (co) precipitación y complejación (superficie) en la transferencia de iones desde la fase acuosa a la fase sólida. Así, la sorción puede definirse ampliamente como la retención de constituyentes químicos a través de la transferencia de iones desde la fase acuosa a la fase sólida. Debido a que la mayoría de los metales están presentes en forma catiónica en los suelos, el intercambio catiónico se enfatiza aquí (Adriano, 2001).

Ciertas propiedades fisicoquímicas de los elementos (electronegatividad y potencial iónico) tienen alguna relación con el comportamiento biogeoquímico de los metales. La electronegatividad influye en el orden en el cual los EPT son sorbidos sobre los constituyentes del suelo. Los enlaces covalentes más fuertes entre los átomos de oxígeno sobre la superficie ocurren con los metales más electronegativos (Adriano, 2001). Para algunos metales divalentes, la preferencia de enlace podría ser:



Respecto a la atracción electrostática, sin embargo, la fuerza de enlace está influenciada por el potencial iónico (relación carga/radio), produciendo un patrón diferente:



Los cambios en el estado de oxidación de los EPT pueden ocurrir dependiendo de la condición redox. Mercurio, As, Se, Cr, Mn y Fe son ejemplos de metales sensibles a ésta condición. Los potenciales redox pueden variar de acuerdo con el pH y la temperatura del medio (Adriano, 2001).

2.4.3 Procesos redox que afectan la solubilidad del metal

El contenido de humedad de los suelos influye en la retención de los metales traza a través de reacciones de óxido-reducción. En suelos oxidados el potencial redox puede variar de +400 a +700 mV. En sedimentos y suelos inundados, dicho potencial puede variar desde -400 (fuertemente reducidos) a +700 mV (bien oxidados). Bajo condiciones de reducción, se pueden formar sulfuros de metales (Adriano, 2001). Las relaciones metal-sulfuro son bastante insolubles, tanto que la movilidad del metal y la biodisponibilidad se consideran menores de lo que podría esperarse en suelos oxidados.

La actividad biológica puede alterar enormemente la solubilidad de los metales en los suelos provocando, directa o indirectamente, cambios en su estado de oxidación.

2.4.3.1 Oxidación de metales por óxidos metálicos

El potencial redox (Eh) es una medida de la capacidad oxidante de la solución. Existen procesos químicos y biológicos que se realizan en el suelo, en los cuales existe una transferencia de electrones y por lo tanto ocurren cambios en el valor del Eh. Esas alteraciones producen a su vez, enormes cambios en el comportamiento químico de la especie participante; es decir, alteran su solubilidad, reactividad, movilidad y por lo tanto el efecto del metal en cuestión (Adriano y Elrashidi, 1994).

Existen elementos que tienen varios estados de oxidación, por ejemplo el Cr, Cu, Hg, Fe y Mn. Esto determina la capacidad de participación en distintos procesos, desde la fase sólida o líquida (Sparks, 1999). El potencial redox del suelo puede cambiar directamente el estado de oxidación de estos metales. Las reacciones que conducen a esos cambios pueden ser lentas; sin embargo, por medio de la intervención catalítica de microorganismos anaeróbicos, se puede acelerar el proceso de reducción de metales (Bartlett, 1999).

En condiciones de reducción y en presencia del ión sulfato, el cual es reducido a ión sulfuro, se favorece la formación de compuestos insolubles como CdS, CuS, MnS y ZnS (Vázquez, 1999).

Generalmente, los metales pesados son menos solubles en sus estados de oxidación más altos (Alloway, 1995). Por lo tanto, la habilidad de los óxidos de Mn (y en menor grado los óxidos de Fe) para oxidar directamente a los metales o para catalizar la oxidación del metal por el O₂, puede proveer un mecanismo para disminuir la solubilidad de los metales traza. La literatura reporta ejemplos donde los óxidos de Mn reducen la solubilidad de los metales mediante procesos de oxidación, como es el caso de la oxidación del Co (II) adsorbido a Co (III) y del Fe (II) a Fe (III).

Es difícil distinguir los procesos de quimisorción, coprecipitación y transferencia de electrones del metal sobre los óxidos de Mn por el efecto del fuerte lavado de los metales pesados desde la solución. Los óxidos de Fe son agentes oxidantes menos poderosos que los óxidos de Mn, y hay poca evidencia de que oxiden metales de forma directa. Sin embargo, tienen una función importante en la oxidación catalizadora con el O₂. Por ejemplo, la oxidación del Mn²⁺ por el O₂ por debajo de un pH de 7.0, es más rápida en presencia de los óxidos de Fe (Manceau *et al.*, 1997).

2.4.3.2 Adsorción de metales por la materia orgánica

La formación de complejos entre el metal y la materia orgánica es importante respecto al transporte y acumulación de EPT en el suelo. Una medida de la permanencia del complejo formado se puede obtener por medio de la constante de estabilidad: cuanto más grande sea el valor de ella, más estable es el complejo órgano mineral. De igual manera la estabilidad del complejo también depende de la actividad del ión hidrógeno; en un medio ácido es factible la separación del metal ligado a la molécula orgánica, debido a que bajo esa condición se desestabiliza al complejo, quedando libre el metal en la solución del suelo (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Cuando en la adsorción participa el ácido húmico, la solubilidad del compuesto se reduce, sobre todo en condiciones de acidez; por lo cual, bajo esta condición la materia orgánica se constituye en una reserva de metales, contribuyendo a disminuir la actividad de los metales y por lo tanto su disponibilidad para las especies vegetales o su movilidad (Barancikova y Makovnikova, 2003).

A pesar de que el enlace del metal sobre la materia orgánica se ve como un proceso de intercambio iónico entre el H^+ y los iones metálicos sobre grupos funcionales acidificados, el alto grado de selectividad que muestra la materia orgánica para ciertos metales sugiere que algunos de ellos se coordinan directamente (es decir, forman complejos en el interior de las esferas de solvatación) con los grupos funcionales (Senesi, 1990).

Los compuestos más estables en los suelos son las sustancias húmicas divididas en las fracciones de ácido húmico, ácido fúlvico y humina, los cuales son similares en estructura, pero diferentes en sus reacciones. Las sustancias húmicas son de una estructura de polímeros de cadena enroscada y contienen un número relativamente largo de grupos funcionales (CO_2 , OH , $C=C$, $COOH$, SH , CO_2H) teniendo una gran afinidad para interactuar con iones metálicos (Kabata-Pendias y Pendias, 2000). La materia es importante en el transporte (y subsecuente lixiviación) y acumulación de iones metálicos que se encuentran en suelos y aguas, como quelatos de diversa estabilidad y en el abastecimiento de estos iones a las raíces de las plantas.

En general, los metales dentro del mismo grupo en la tabla periódica y con la misma carga tienen una proporción de intercambio más rápida a medida que su radio iónico se incrementa. Sin embargo, algunos metales no siguen esta regla. Por ejemplo, el Cu^{2+} tiene una proporción de intercambio inusualmente más rápida que los otros metales de transición de la primera fila. De esta manera la materia orgánica funciona como regulador de la dinámica de los metales y la magnitud de esta acción depende de la cantidad humificada presente en el suelo, que por lo general es baja (Vázquez, 1999; Boisson *et al.*, 1999).

2.4.3.3 Especiación de metales en solución

El término *especiación*, solo como “metal”, es un término multifacético y difícil de asignar una simple definición. La especiación del metal incluye la forma química del mismo en la solución del suelo, como un ion libre o complejo a un ligando, en la fase gaseosa, y distribuido entre las fases sólidas dentro del suelo (Roberts *et al.*, 2005).

Las reacciones de sorción de metales en suelos en gran medida dictaminan su movilidad, destino y biodisponibilidad y son, por lo tanto, vitales para entender la especiación del metal. La remoción de metales desde la solución del suelo por las fases orgánica e inorgánica es un proceso mediante el cual los metales tóxicos pueden ser secuestrados, aliviando potencialmente los efectos destructivos al ambiente. Es posible que algunos mecanismos contribuyan a la remoción de un ion metálico desde la solución (Roberts *et al.*, 2005). Una manera de considerar la relación entre sorción de metales en los componentes del suelo y la especiación del metal, es pensar en la sorción como la reacción que involucra el ion metálico y la especiación como el producto final de esta reacción; sin embargo, es importante notar que al tiempo que la especiación de un metal cambia, la sorción también es un proceso dinámico.

Como resultado de las interacciones entre metales y ligandos y bajo la influencia del pH, del potencial redox, y de otras características del suelo, la mayoría de los elementos pueden encontrarse en diferentes especies químicas (Streit y Stumm, 1993). La determinación analítica de las diferentes formas químicas de un metal es sumamente difícil y en parte imposible (un método útil para estados sólidos es la espectroscopia por resonancia magnética nuclear, NMR).

Estos mismos autores mencionaron que es posible realizar estimaciones aproximadas cuando se aplican algunos datos básicos de cinética:

1. Las constantes de estabilidad de complejos formados entre metales y ligandos que ocurren naturalmente son muy variadas. En los elementos hidratados del tipo $M(H_2O)^{2+}$, la pérdida de una molécula de agua a cambio de una molécula de ligando (L^-) es comúnmente lo que determina el paso para la formación de un complejo. La presencia del primer ligando coordinado frecuentemente facilita el reemplazo de las moléculas restantes de agua (en el caso de formaciones de quelatos), para que la segunda reacción sea relativamente rápida. El valor de pH con frecuencia tiene una fuerte influencia sobre el tipo de sustitución.
2. Comparada con otros procesos en el ambiente, como son la precipitación, intercambio iónico, flujo de masas y las transformaciones orgánicas, la formación de complejos de metales con ligandos es más rápida, por lo tanto, los modelos de equilibrio proveen buenas estimaciones de la complejación esperada. Usando datos sobre componentes catiónicos y aniónicos, su fuerza iónica y las constantes termodinámicas de equilibrio, se han desarrollado modelos en computadora, que permiten predecir bajo condiciones de equilibrio y a un pH específico los complejos que predominan en esa situación.

Las cantidades de EPT disueltos en la solución del suelo son muy bajas. Vázquez (1999) mencionó que la variación de la concentración es de 0.01 a 0.1 mg L⁻¹, para suelos que no han sido alterados por materiales que contengan EPT. Mientras que para el caso de suelos contaminados esa cifra se puede elevar en proporción. Con base en principios termodinámicos se pueden obtener las solubilidades de los compuestos que contienen metales.

En algunos casos no se han podido verificar experimentalmente los valores predichos de solubilidad, debido a la concurrencia de reacciones de formación de complejos, adsorción y coprecipitación, que se presentan paralelamente a la reacción precipitación-disolución del compuesto principal o bajo estudio (Moral *et al.*, 2005).

A pesar de ello es posible emplearlas para entender cómo se produce ese control en la concentración de la solución, por ejemplo, es muy probable que en un suelo calcáreo, la actividad del plomo y cadmio sea controlada por la presencia de carbonatos formando carbonatos de plomo o cadmio, los cuales presentan muy bajas solubilidades (Moral *et al.*, 2005). Para poder hacer este tipo de inferencias se requiere conocer todos los componentes de la fase sólida que participan en el equilibrio, así como sus solubilidades y las reacciones que se producen entre el metal y los minerales que los contienen.

Los óxidos de manganeso muestran particularmente una fuerte preferencia por la sorción de Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Pb^{2+} ; los óxidos de Fe y Al preferentemente adsorben Pb^{2+} y Cu^{2+} en cantidades más fuertes que los metales divalentes como Ni, Mg, Co, Zn, Cd y Sr (McBride, 1994).

2.4.3.4 Reacciones biológicas

La actividad microbiológica tiene una influencia apreciable sobre los equilibrios en que participan los metales, debido a que producen sustancias acidificantes, las que pueden aumentar la solubilidad de algunos de los componentes donde se encuentran los metales. También se promueve la movilización de ellos por la misma actividad microbiológica, puesto que al degradar la materia orgánica, estas sustancias conducen a la liberación de los metales, lo que les facilita su movimiento al interior del perfil del suelo (Vázquez, 1999).

Sin embargo, Kabata-Pendias y Pendias (2000) mencionaron que la inmovilización de metales por los microorganismos también es importante puesto que impide que las formas asimilables se incrementen sustancialmente. En este caso se debe considerar la tolerancia de los organismos al efecto tóxico de diferentes metales.

Los mecanismos que conducen a la inmovilización de los metales por parte de los microorganismos consisten en síntesis de proteínas afines a los EPT, las cuales se unen a éstos, producción de polisacáridos con propiedades aniónicas que también atraen a cationes metálicos, reducción bacteriana de sulfato a sulfuro, lo que ocasiona la inmovilización del Cd, Pb y Hg, debido a que se forman sulfuros, los cuales son compuestos de muy baja solubilidad (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

En la rizósfera de las plantas se llevan a cabo importantes procesos que definen el desarrollo y la producción de compuestos exudados. Existe un flujo de compuestos producto de la fotosíntesis que son excretados por la raíz, en forma de carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, enzimas, nucleótidos, entre muchos otros. Estos exudados se liberan de la planta por los efectos físicos y ambientales como luminosidad, temperatura, pH, daños a la raíz y contenido de agua del suelo (Nannipieri *et al.*, 2007). Esto hace de este sitio, una zona ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos capaces de crecer sobre contaminantes orgánicos y EPT, y que al establecerse, tienen diferentes funciones relacionadas con las plantas.

Gracias a estos organismos existe disponibilidad de nutrimentos a través de la liberación de P, K, la fijación biológica de N, la producción de hormonas, la simbiosis con hongos formadores de micorriza y el control biológico natural (Wensel, 2009). Además, por las condiciones de acidez en la rizósfera, también se favorece la solubilidad de EPT presentes en el suelo como el Pb, Cd y Ni, los cuales son absorbidos por las plantas.

En México, diversos investigadores (Carrillo-González y González-Chávez, 2006, 2011; Ortega-Larrocea *et al.*, 2010), desarrollaron trabajos para observar el efecto de algunos microorganismos en la remediación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos.

2.5 Formas de extracción de EPT

Algunos autores (Tessier *et al.*, 1979; Gambrell, 1994 ; Kaasalainen y Yli-Halla, 2003; Roberts *et al.*, 2005; Kim y McBride, 2006), señalaron que existen técnicas para realizar una extracción secuencial de metales, donde cada fase se relaciona con la reacción de la fase disuelta con un reactivo en particular. El fraccionamiento de los metales se ha empleado para el estudio de las especies químicas de Cr, Mn, Ni y Zn en la fase sólida de los horizontes superficiales de los suelos regados con efluentes de aguas residuales y en suelos tratados con lodos residuales o en ambientes contaminados.

Las formas de extracción son:

Solubles. Se utiliza agua desionizada con la finalidad de obtener el extracto del suelo en condiciones de saturación. La forma de actuar es una simple solubilización de las sales solubles del sistema.

Intercambiables. Se utilizan soluciones electrolíticas como KCl, KNO₃, CaCl₂, Ca(NO₃)₂, para la extracción de los metales intercambiables a través de su sustitución en los sitios de intercambio con el catión que se emplee como reemplazante.

Adsorbidos específicamente. Para extraer esta forma de metal puede usarse la hidroxilamina, que tiene un efecto reductor sobre el hierro y el manganeso que forma parte de los óxidos, lo que favorece la solubilización del metal retenido. También se ha utilizado la solución de oxalato-ácido oxálico y al ditionito-citrato-oxalato. La combinación de efectos dispersante (oxalato), reductor (ditionito) y complejante (citrato), permite cuantificar la forma de metal unido específicamente a la superficie de los óxidos.

Precipitados. Para recuperar los metales precipitados en el suelo, se emplea una solución de ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), que facilita la disolución de carbonatos y sulfuros metálicos; su efecto se debe a que compite con los aniones por metales. Esa competencia es favorable a las moléculas del EDTA, por lo que permite incorporar al metal en su estructura y formar complejos estables.

Unidos a compuestos orgánicos. El principio básico con que se pueden recuperar los metales presentes en los compuestos orgánicos, corresponde a la solubilización de los mismos, a través de la destrucción de los sitios de enlace entre metal y materia orgánica. Los compuestos que tienen este efecto son: pirofosfato de sodio, agua oxigenada, hipoclorito de sodio, hipobromito de sodio y el hidróxido de sodio.

Ocluidos. La extracción de esta forma, se logra mediante la destrucción del mineral que ocluye el metal de interés, para ello el reactivo más frecuentemente utilizado es el ditionito de sodio por tener una alta capacidad para reducir elementos (Fe y Mn) así como por poder disolver minerales que contienen silicio y aluminio.

Disponibles. Es la fracción biológicamente más importante debido a la posibilidad de ser absorbida por las plantas. Para su obtención se tienen diferentes sustancias, dentro de las cuales destacan el EDTA y el DTPA (ácido dietilentriamino pentaacético), la primera disuelve el precipitado y las formas lábiles de metales ligados a la materia orgánica. La segunda tiene un efecto similar al EDTA, pero al adicionarse a su solución el CaCl_2 y la trietanolamina, permite que se recuperen las formas solubles e intercambiables, y también se tiene un mejor control de la disolución de los carbonatos.

Fracción residual. Esta fracción se cuantifica a través de la digestión del material remanente de los pasos anteriores, para ello se emplea al ácido nítrico concentrado, el cual disuelve todos los minerales del suelo excepto a silicatos.

Las categorías restantes poseen diferente potencial para mobilizarse y formar parte de las primeras (Tessier *et al.*, 1979; Gambrell, 1994). Así, la estabilidad de los EPT precipitados en compuestos inorgánicos, depende en gran medida del valor del pH; cuanto mayor sea el pH, más baja es la solubilidad de los compuestos, debido a la formación de hidróxidos.

Las moléculas de la materia orgánica que atrapan metales, permiten mantenerlos inmóviles, debido a que los complejos formados son muy estables, situación que se puede alterar por la oxidación de la materia orgánica (Tessier *et al.*, 1979; Gambrell, 1994).

2.6 Características generales de Pb, Cd y Ni

Plomo. El Pb está ubicado en el grupo IV A de la tabla periódica de los elementos, con número atómico 82, peso atómico 207.2, densidad 11.3 g cm^{-3} (20 °C) y tiene dos estados de oxidación Pb (II) y Pb (IV). El contenido promedio de este metal en la litósfera está estimado en 16 mg kg^{-1} , y el promedio para los suelos es de 2 a 200 mg kg^{-1} (Davies, 1995). En el suelo se encuentra principalmente en forma de Pb^{2+} , sin embargo, también se conoce su estado de oxidación +4. Algunos minerales comunes de plomo son: galena (PbS), anglesita (PbSO_4), piromorfita [$\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$] y mimetesita [$\text{Pb}_5(\text{AsO}_4)_3\text{Cl}$] (Pais y Jones, 1997).

No tiene función esencial en las plantas; la absorción, cuando se presenta, es pasiva; la tasa de absorción se reduce al aumentar el pH y cuando disminuye la temperatura. A pesar de no ser fácilmente soluble en el suelo, es absorbido principalmente por los pelos de las raíces, y es almacenado en las paredes celulares, esta absorción varía significativamente en relación con la concentración presente en los suelos, así como por las diversas formas en que el Pb se encuentra (Davies, 1995; Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

En solución ácida está presente como Pb^{2+} y a medida que se incrementa el pH se hidroliza para formar $Pb(OH)^+$, $Pb(OH)_2^0$, $Pb(OH)_3^-$ y $Pb(OH)_4^{2-}$ (Wild, 1993). Bajo ciertas condiciones el Pb es móvil en la planta y las formas precipitadas en las células del plasmalema se transportan y depositan en los tejidos de las plantas. La variación de los contenidos de Pb en las plantas se debe a anomalías geoquímicas, contaminación, variaciones estacionales, genotipos y habilidad de la especie para acumular al elemento. El Pb presenta posible antagonismo con el Zn y sinergismo con el Cd (Carrillo *et al.*, 1993; Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

El análisis de suelos contaminados muestra que el plomo se concentra cerca de la superficie del suelo, con poco movimiento hacia las partes bajas del perfil del suelo (Mench *et al.*, 1994). La baja movilidad se debe a la adsorción sobre las superficies de los óxidos de Fe y Mn y en arcillas aluminosilicatadas (Wild, 1993).

Cadmio. El Cd está considerado dentro del grupo II B de la tabla periódica, con número atómico 48, peso atómico 112.40, densidad 8.65 g cm^{-3} ($20 \text{ }^\circ\text{C}$) y con un estado de oxidación (II) (Alloway, 1995). Debido a su toxicidad para casi todos los organismos vivos y su falta de funciones biológicas, el Cd es de gran interés como contaminante del ambiente.

Este elemento puede acumularse en el suelo por las actividades humanas, la aplicación de fertilizantes, la adición de aguas residuales y desechos industriales. Estas actividades podrían incrementar potencialmente la concentración de Cd en el suelo en muchas regiones agrícolas del mundo (Rachou *et al.*, 2004).

La abundancia de Cd en rocas sedimentarias e ígneas no excede de 0.3 mg kg^{-1} y las concentraciones son parecidas en depósitos arcillosos y en rocas metamórficas (Kabata-Pendias y Pendias, 2000). La greenockita (CdS) es la forma mineral más común del Cd (Pais y Jones, 1997).

El comportamiento del Cd es parecido al del Zn, sólo que es mucho más afín al S y más móvil en ambientes ácidos. En ambientes naturales el cadmio se encuentra con valencia 2+ por lo que en solución forma CdCl^+ , CdOH^+ , CdHCO_3^+ , CdCl_3^- , CdCl_4^{2-} , $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$, y $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$, y quelatos orgánicos. Bajo condiciones extremas de oxidación tiende a formar minerales como CdO (monteponita) y CdCO_3 (octavita) y a acumularse en fosfatos y en depósitos biolíticos (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

La concentración de cadmio promedio en los suelos es de 0.07 a 1.1 mg kg^{-1} . A valores altos de pH el cadmio no es móvil, posiblemente por la baja solubilidad de los carbonatos y fosfatos (Davies, 1994). A pH ácido los óxi-hidróxidos de hierro y la materia orgánica controlan la solubilidad del cadmio, y a pH alcalino el Cd precipita, por lo que es inmóvil. La concentración de Cd en la solución del suelo es de 0.2 a 6 $\mu\text{g L}^{-1}$; en suelos contaminados se ha llegado a reportar concentraciones hasta de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Davies, 1994).

Para recuperar los suelos contaminados por este metal se recomienda entre otras cosas: lavar los suelos con soluciones ácidas, encalar (para elevar el pH) y aumentar la capacidad de intercambio de cationes) (Alloway, 1995). La contaminación ambiental por Cd se ha incrementado rápidamente en las últimas décadas, como resultado del aumento en el consumo de cadmio por la industria.

Níquel. Está dentro del grupo de transición VIII B de la tabla periódica de los elementos, con número atómico 28 y peso atómico de 58.71. Tiene varios estados de oxidación (0, 1, 2 y 3) pero sólo el Ni (II) es el más estable (Uren, 1992). Su densidad es de 8.9 g/cm^3 (20 °C) (McGrath, 1995). Las formas minerales más comunes del Ni son: nickelina (NiAs), millerita (NiS), monenoquita ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), genthita [$\text{Ni}_4(\text{Mg})\text{Si}_3\text{O}_{10}$], en olivino, el contenido de Ni es de 3 g kg^{-1} de mineral (Pais y Jones, 1997).

Las rocas ígneas son la fuente primaria de Ni en los suelos (Adriano, 2001). Las concentraciones de este elemento en el suelo varían de 1 a 100 mg kg⁻¹, con una media de 20 mg kg⁻¹, esto depende principalmente de la roca madre y, en algunos casos de los factores formadores del suelo como el clima, ya que se han encontrado altas concentraciones de níquel en zonas áridas y semiáridas (Kabata-Pendias y Pendias, 2000; Adriano, 2001). El níquel es muy móvil durante los procesos de intemperismo y precipita principalmente con los óxidos hierro y manganeso, es muy afín a la materia orgánica y puede concentrarse en grandes cantidades de carbón y petróleo.

La superficie o el subsuelo puede ser relativamente más alta o tener similar concentración de Ni que el resto del perfil del suelo, dependiendo del material parental, grado de contaminación o de los procesos pedogenéticos (Adriano, 2001). La concentración de Ni en la solución de los horizontes superficiales de los suelos varía de 3 a 25 µg L⁻¹ y las formas solubles son las siguientes: Ni²⁺, NiOH⁺, HNiO₂⁻ y Ni(OH)₃⁻ (Uren, 1992).

El ion hidratado Ni²⁺, Ni(H₂O)₆²⁺, es la forma más probable de encontrar al Ni en la solución del suelo, pero su concentración podría disminuir a medida que incrementa el pH y la actividad de los ligandos disponibles para formar complejos (Brown *et al.*, 1988; Uren, 1992). La recuperación de los suelos contaminados con Ni se realiza con la adición de caliza, fosfatos y materia orgánica, ya que de esta forma disminuye su solubilidad. Los síntomas de toxicidad del Ni, además de mostrar una disminución en el desarrollo, incluyen clorosis, desarrollo atrofiado de las raíces y algunas veces necrosis intervenal de color café. Este elemento es altamente fitotóxico en bajas concentraciones, de 19 a 100 mg kg⁻¹ en la planta (Uren, 1992; McGrath, 1995).

2.7 Proceso de absorción y translocación de los EPT por las raíces de las plantas

La raíz es el principal órgano de absorción de los iones metálicos y no metálicos que son transportados en el agua. Los metales en la solución del suelo (iones libres o quelatos) se mueven por difusión y flujo de masas (Marschner, 1986). La absorción del agua por las raíces se lleva a cabo principalmente en la región justo atrás de la zona de elongación, donde los pelos radicales están bien desarrollados (Streit y Stumm, 1993). Con altos flujos de agua y alta concentración de metales en la solución del suelo, el volumen que fluye en el suelo tiene una función importante en la disponibilidad del metal para la planta. Mientras el transporte de agua en el suelo y en el xilema ocurre principalmente por el flujo de agua, el transporte dentro de la raíz puede ocurrir en diferentes formas:

Vía apoplástica. Es una ruta exclusivamente a través de las paredes celulares, evitando pasar por las membranas. Este mecanismo se realiza sólo en la parte de la corteza de la raíz y en el exterior del eje central entre el xilema y el floema (Streit y Stumm, 1993; Salisbury y Ross, 1994; Peterson y Enstone, 1996). Los iones pueden entrar libremente al apoplasto y también ser excluidos del tejido por este proceso.

Vía simplástica. El transporte ocurre cuando un ión ya se encuentra en el citoplasma y pasa al citoplasma de la célula vecina a través de los plasmodesmos. Por esta vía sólo ciertos iones pueden transportarse (Streit y Stumm, 1993; Salisbury y Ross, 1994; Peterson y Enstone, 1996).

Vía célula a célula. Es una combinación del transporte simplástico y el movimiento transcelular. Este último se lleva a cabo cuando un ión pasa a través del plasmalema y el tonoplasto, y en su paso por la célula se incluye su movimiento dentro de la vacuola (Taiz y Zeiger, 1991; Peterson y Enstone, 1996).

La localización exacta del ión metálico absorbido por las raíces es diferente, dependiendo del metal en consideración. Algunos metales en la planta son absorbidos principalmente en la región apical de la raíz, mientras que otros lo hacen sobre la totalidad de la superficie de la raíz (Figura 1).

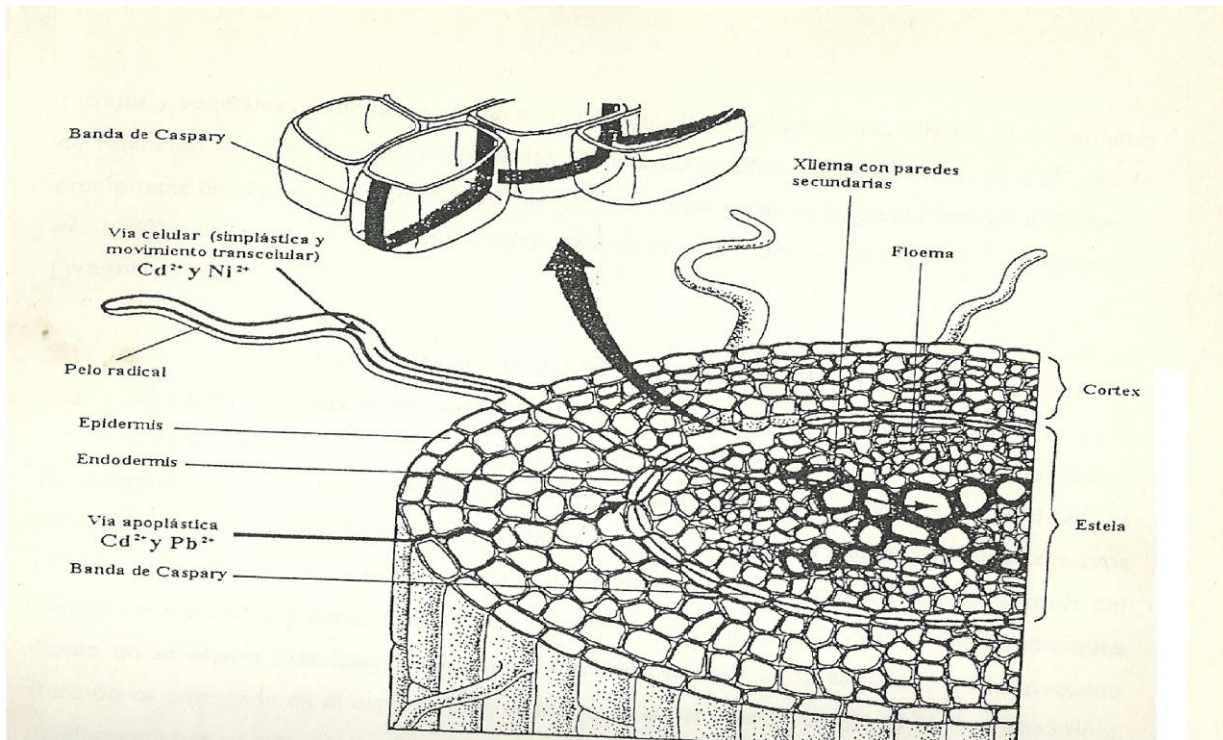


Figura 1. Vías de absorción del Pb, Cd y Ni en las raíces de las plantas (Adaptado de Taiz y Zeiger, 1991).

La translocación de elementos no esenciales al follaje de las plantas es muy limitada, ya que es necesario que los elementos entren por el simplasto para atravesar la banda de Caspary en la endodermis de la raíz y ser secretados en la estela. En este sentido, Lane y Martin (1980) reportaron que la endodermis es una barrera parcial para la translocación del Pb²⁺ a la parte aérea de la planta.

El Cd²⁺ entra principalmente por filtración en la estela y la proporción en que se transloca depende de su contenido en la raíz. Este elemento tiene una alta movilidad en las plantas, el porcentaje translocado a la parte aérea se incrementa en respuesta a las altas concentraciones (Arduini *et al.*, 1996). Por otra parte, el Ni tiene una alta

movilidad en las plantas de frijol y se puede encontrar en la savia del xilema formando diferentes ligandos (Guo y Marschner, 1995).

2.8 Absorción de Pb, Cd y Ni por las raíces de las plantas

Plomo. Este elemento es capaz de moverse a través de la planta, principalmente por el apoplasto de la raíz. La absorción de Pb^{2+} se inicia por procesos fisicoquímicos pasivos, seguidos de una acumulación metabólica lenta en el citoplasma y se mueve en forma radial a través del córtex y se acumula en la endodermis (Streit y Stumm, 1993). El plomo puede ser absorbido fácilmente por las raíces de las plantas, sin embargo, solo una pequeña cantidad se transloca a la parte superior (País y Jones, 1997).

La translocación desde las raíces a otras partes de la planta es baja (Streit y Stumm, 1993). Los estudios histoquímicos indican que la endodermis y otras estructuras de la raíz tienen una función importante en la distribución del Pb, ya que la endodermis actúa como una barrera al movimiento del metal entre la raíz y el tallo. En raíces de *Zea mays* el Pb^{2+} se precipita y gradualmente se acumula como cristales de plomo en las paredes celulares, identificados como fosfatos de plomo (Davies, 1995).

La acumulación aérea y la absorción foliar pueden contribuir significativamente a concentraciones elevadas. La absorción es estimulada por condiciones anaeróbicas (por inundación), valores bajos de pH, bajas concentraciones de fosfato y niveles orgánicos (Streit y Stumm, 1993). En suelos, este metal es muy inmóvil y con un largo tiempo de vida media debido a la adsorción por las arcillas del suelo, fosfatos, sulfatos, carbonatos, hidróxidos y materia orgánica. Las altas concentraciones del suelo pueden inhibir los procesos microbianos y reducir los de descomposición.

Cadmio. Es un elemento no esencial para los procesos metabólicos, y es absorbido rápidamente por las raíces (Kabata-Pendias y Pendias, 2000) por difusión, como ión divalente Cd^{2+} (Leita *et al.*, 1996) formando iones complejos y quelatos orgánicos. La absorción puede ocurrir pasiva y metabólicamente. Es fácilmente adsorbido por la arcilla y la materia orgánica. Su absorción es estimulada a valores de pH por abajo de 6 y está limitada por valores arriba de 7. El Zn, Cu y Se parecen reducir la absorción o toxicidad del Cd. Streit y Stumm (1993) encontraron que dentro de la planta es muy móvil y se transporta fácilmente a diferentes partes de ésta; las concentraciones más altas se encuentran en las raíces y en partes de las hojas.

Una gran parte del Cd^{2+} absorbido por las raíces se encuentra inmovilizado en el espacio libre aparente, enlazado principalmente a componentes de la pared celular, que en su conjunto conforman el espacio libre de Donnan (Leita *et al.*, 1996). En los cereales, forrajes y vegetales donde no se utilizan las raíces, es muy importante la alta retención de los EPT por las raíces (Guo y Marschner, 1995), aunque el mecanismo de retención no es muy claro. Wagner (1993), señaló que el Cd^{2+} puede precipitarse en las raíces como oxalatos de cadmio en los espacios intercelulares, o estar secuestrados en las vacuolas o en el citosol por efecto de la quelación.

Níquel. Generalmente es absorbido de la solución del suelo en forma iónica (Ni^{2+}) (Uren, 1992; Mc Grath, 1995). Actualmente se considera en la lista de los nutrimentos esenciales para las plantas, formando parte de la enzima ureasa, se requiere en concentraciones muy bajas ($< 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$), pero en concentraciones excesivas es tóxico para las plantas (Yang *et al.*, 1996).

Streit y Stumm (1993) mencionaron que este elemento es esencial para algunas plantas con simbiontes fijadores de N y es absorbido en diferentes formas solubles (quelatos orgánicos y adsorbidos sobre óxidos). La absorción es estimulada a valores de pH por abajo de 6 y está limitada por el limo, hierro y fosfato.

En el suelo puede coprecipitar con Fe y Mn, y es adsorbido fácilmente por la materia orgánica. Guo y Marschner (1995) señalaron que este metal es absorbido rápidamente por las raíces y se puede acumular en altas concentraciones en distintas partes de la planta.

2.9 Mecanismos de eliminación de EPT

La mayor parte del elemento que ingresa en una planta cormofita se encuentra fuertemente ligado al tejido y sólo se libera al ambiente después de la descomposición de toda la planta o parte de ella. Streit y Stumm (1993) mencionaron que existen pocas rutas para la eliminación de metales, por lo general con efectos moderados, entre los cuales se pueden mencionar:

Caída de hojas. La cantidad de metal en una planta puede, en un cierto porcentaje, perderse por la caída de hojas o por descomposición de partes de la corteza (como en los árboles) o en todas las partes del tallo (como en hierbas perennes) durante la época fría o seca.

Lixiviación. Los metales pueden, en cierto grado, moverse a través de la cutícula de la planta. Es posible que la lluvia ácida actúe en favor de este mecanismo por alteración de la estructura cuticular.

Transformación en especies de metal volátil. Algunos metales y metaloides pueden ser transformados por las plantas en formas químicas volátiles. Por ejemplo, el selenio puede transformarse en dimetil seleniuro $\text{Se}_2(\text{CH}_3)_2$, y emitirse a través del aire. También el mercurio puede ser transformado en metil mercurio por algunas plantas y ser reducido a Hg^0 para su volatilización.

Secreción de fluidos. Para algunos metales, como el berilio, la secreción de fluidos por árboles de coníferas representa una vía efectiva de eliminación. Otra posible estructura para la excreción del metal son los hidatodes, los cuales son exudados por la savia del xilema a través de la corteza o de la raíz.

2.10 Efecto de los EPT en plantas cultivadas

La adaptabilidad de las plantas vasculares como especies indicadoras es localizada, y su utilidad es limitada en áreas geográficas extensas. La mayor respuesta de las plantas al contenido del metal en el suelo se observa sobre un área pequeña o dentro de ecosistemas semejantes y bajo propiedades moderadas del suelo. Algunas variables del suelo, especialmente la capacidad de intercambio catiónico, pH, Eh y la materia orgánica, afectan la respuesta de las plantas a las concentraciones de los EPT en los suelos (Kabata-Pendias *et al.*, 1993).

Es probable que las plantas que crecen en suelos contaminados desarrollen una respuesta diferente. Cuando se excede la concentración en el medio de desarrollo, se observa un incremento en la absorción de los EPT, esto se relaciona principalmente con Cd, Zn y Ni. Otros metales como Cu, Mn y Pb son menos móviles en los suelos; sin embargo, también son absorbidos en cantidades elevadas por las plantas superiores, pero la respuesta a estos elementos es muy compleja. Las características biogeoquímicas de los metales son importantes en el medio de desarrollo, debido a que las habilidades de las plantas para absorberlos son variables. Kabata-Pendias *et al.* (1993) mencionaron que las plantas vasculares son más aptas para proporcionar una mejor respuesta a las concentraciones de Cu, Zn y Ni en los suelos, que para otros metales.

Las leguminosas son más prometedoras para indicar la contaminación del suelo con metales, que las plantas monocotiledóneas, particularmente los cereales. Sin embargo, bajo condiciones de alta contaminación, la concentración de EPT en las partes del cereal, incluyendo los granos, puede correlacionarse con la concentración del elemento en el medio de desarrollo (Kabata-Pendias *et al.*, 1993). La respuesta de la planta a la contaminación de los EPT en el suelo es variable y está controlada por algunos factores del suelo y planta. Por esto, en la evaluación de la adaptabilidad de las plantas vasculares como bioindicadores, deben considerarse los niveles de contaminación y los compuestos contaminados.

Los síntomas de toxicidad, aunque no específicos para Pb, son hojas pequeñas y con un desarrollo raquítrico. Las hojas son cloróticas y rojizas con necrosis y las raíces adquieren coloración negra. La fitotoxicidad del Pb puede ser tan baja como limitada sea la disponibilidad y absorción desde el suelo y las soluciones del mismo. Sin embargo, las raíces de las plantas por lo general son hábiles para absorber y acumular grandes cantidades de Pb^{2+} en el suelo y en las soluciones de cultivo, pero la translocación a los brotes aéreos se limita, debido a la unión a la superficie de las raíces y paredes celulares (Mehra y Farago, 1994).

El Pb puede encontrarse sobre la superficie de las hojas, tronco y tallo donde se deposita desde la atmósfera por vía húmeda o seca. La translocación de Pb desde la superficie externa a las partes internas de las hojas, tubérculos, frutos o semillas es muy pequeña. En diversos trabajos se han revisado los mecanismos de absorción y transporte del Pb en plantas y las concentraciones de este metal encontradas en diferentes especies vegetales. Mehra y Farago (1994) reportaron una disminución en la biomasa y una baja relación raíz/tallo en *Hordeum vulgare* y *Zea mays* cuando se trataron con $207 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.

El exceso de Pb en las plantas puede alterar algunos procesos fisiológicos y bioquímicos, incluyendo respiración mitocondrial en maíz, fotosíntesis en soya y transporte fotosintético del electrón en cloroplastos aislados de espinaca (Adriano, 2001).

Por ejemplo, plántulas de maíz tratadas con Pb como $PbCl_2$, exhibieron una disminución neta de la fotosíntesis y transpiración con incrementos con el nivel de tratamiento de Pb (Adriano, 2001). El simultáneo ascenso y descenso en la fotosíntesis y transpiración de las plantas en respuesta al incremento del nivel de Pb sugiere que la tasa de cambios de los dos procesos está relacionada con cambios en la resistencia estomática de la hoja a la difusión de CO_2 y vapor de agua. Aunque el Pb es tóxico para las plantas bajo condiciones experimentales, raramente es fitotóxico bajo condiciones de campo, a menos que los niveles en el suelo sean altos como en las áreas cercanas a fuentes puntuales o cuando las condiciones físicas y químicas (por ejemplo, arena, suelos ácidos bajos en CIC) favorecen su acumulación (Adriano, 2001).

El Cd es absorbido especialmente por las plantas en la zona radicular. Comúnmente, las raíces contienen diez veces más Cd que los tallos, por lo que actúan como una barrera. Sin embargo, el grado depende de las especies (Mehra y Farago, 1994). Muchas de éstas muestran concentraciones de Cd significativamente más bajas en frutos que en tallos.

En varias especies como la espinaca, soya y trigo, estas barreras son poco efectivas. En granos de arroz, puede haber un enriquecimiento de Cd comparado con las hojas (Mehra y Farago, 1994).

Piotrowska y Dudka (1994) encontraron en el trigo inmaduro y maíz las más altas concentraciones de Cd y su contenido aumentó con las dosis aplicadas. Las partes vegetativas de la planta mostraron una mayor concentración del metal que el grano.

Iretskaya y Chien (1999) reportaron la concentración de cadmio en garbanzo (*Vigna sinensis*), la cual no excedió los $0.100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, que es la concentración máxima permisible en cereales de grano, adoptada por algunos países europeos. Mientras en otro estudio, la concentración de Cd varió en diferentes especies de planta, desarrolladas en el mismo suelo, en el orden: espinaca > zanahoria > ballico > avena (He y Singh, 1994).

El incremento de Cd en los cereales se relacionó claramente con la forma intercambiable del metal en los suelos, lo cual concuerda con la opinión de que esta forma es realmente disponible para las plantas. La concentración de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cd (más el contenido de Cd nativo del suelo) se consideró como la concentración máxima permisible del metal en el suelo (Piotrowska y Dudka, 1994).

Las concentraciones de Cd que varían de 4 a $5 \mu\text{g g}^{-1}$ originan reducciones del 25% en el crecimiento de plantas de frijol en soluciones nutritivas. Mientras que el contenido crítico de este elemento en un suelo arenoso podría no exceder 1.5 a $5 \mu\text{g g}^{-1}$ para el cultivo de trigo (*Triticum vulgare* L.) (Dudka *et al.*, 1994). Otros experimentos indican que el crecimiento de plantas de frijol es severamente inhibido por la presencia de concentraciones de 1.0 mg L^{-1} de Cd. De manera general, se ha encontrado que el crecimiento de las leguminosas es mucho más sensible a la influencia del Cd que el crecimiento de las cucurbitáceas y gramíneas.

El contenido de K en las leguminosas sensibles disminuye por efecto de Cd en las raíces. Por lo tanto, este metal puede causar inhibición de la absorción de K en la membrana plasmática de las células de la raíz (Rivera y Trujillo, 1998). Estos investigadores también señalan un efecto directo del Cd en las plantas de alfalfa que crecieron con altas concentraciones de dicho elemento, manifestado por una severa clorosis con algunos puntos necróticos, y mostraron signos de toxicidad con deficiente desarrollo de las raíces. Las plantas que estuvieron expuestas a 5 mg kg^{-1} murieron a los 21 días.

Mehra y Farago (1994) reportaron altas concentraciones de Cd en espinaca y lechuga, las cuales son conocidas como acumuladoras de este metal. Entre las hortalizas, las hojas de lechuga y espinaca mostraron las más altas cantidades del elemento. Altas aplicaciones de cadmio pueden inducir un retardo en el crecimiento y daño de la raíz, clorosis de las hojas y coloración café-rojiza de los márgenes de la hoja o venas.

Carrillo *et al.* (1992) observaron en suelos del valle del Mezquital, Hgo., irrigados con aguas residuales, que las concentraciones de Cd y Pb en tejido vegetal (*Avena sativa* L.) estuvieron por arriba del intervalo considerado como normal, sin ser aparentemente fitotóxicos. En esta misma zona, pero utilizando el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) como indicador, Carrillo y Cajuste (1992) observaron incrementos en la concentración de Cd, Pb y Cr en el tejido vegetal.

En otro estudio realizado en el estado de Hidalgo aplicando dosis crecientes de Pb y Cd en forma de $Pb(NO_3)_2$ y $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ a dos suelos, Carrillo *et al.* (1993) encontraron que la aplicación conjunta de Pb y Cd ocasionó mayores efectos tóxicos y una reducción en el desarrollo del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) que su aplicación individual. Ambos metales produjeron efectos antagónicos sobre la absorción del Zn. Por su parte, García y Cajuste (2000) reportan una reducción significativa en las concentraciones de Pb y Cd en las hojas de *Lolium perenne*, cuando se aplican 500 mg kg^{-1} P al suelo.

Mehra y Farago (1994) señalaron al Ni como un micronutriente esencial para las leguminosas. La mayoría de las plantas contienen Ni en el intervalo de $1-6 \text{ mg kg}^{-1}$ y su absorción y disponibilidad se incrementa con valores de pH menores de 6.5, como consecuencia de la descomposición de los complejos de Ni en el suelo con los óxidos de Fe y Mn.

Rivera y Trujillo (1998) mencionaron que una concentración de 50 mg Ni kg^{-1} puede ser tóxica para las leguminosas, y el Cd y Pb pueden ser fitotóxicos para la alfalfa y otras leguminosas si se rebasan las concentraciones de 5 a 30 mg kg^{-1} y de 30 - 300 mg kg^{-1} , respectivamente. Los síntomas de fitotoxicidad en las leguminosas se observan visualmente por la falta de crecimiento vegetativo, y en muchos casos son evidentes los signos de clorosis en el follaje y altas concentraciones de EPT en las hojas, raíces y fruto.

Díaz (1999) demostró que el crecimiento de las plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) fue severamente afectado por el Cd y Ni, debido a que estos metales son muy móviles en las plantas y se acumularon en el follaje en concentraciones que pudieron interferir en los sitios metabólicos de las plantas, desde las etapas tempranas de su desarrollo. Debido a su baja movilidad y actividad en la solución, el Pb se acumuló en bajas concentraciones, favoreciendo el crecimiento de las plantas.

2.11 El azufre en el suelo y los metales pesados

2.11.1 Importancia

Se estima que la corteza terrestre contiene 0.06% de S (Brady y Weil, 1999), pero hay zonas de alta acumulación en forma de yacimientos. En México existen yacimientos en Tehuantepec y San Luis Potosí. El azufre es un elemento esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ubicándose entre los seis macroelementos de mayor demanda. Se considera el componente esencial de las proteínas y péptidos, su concentración en las plantas es similar o, en algunos casos, superior al P (Guerrero, 1999).

La mayoría de los suelos contienen pequeñas cantidades de S inorgánico, que contrasta con la cantidad en los compuestos orgánicos; la excepción son los suelos yesíferos de las zonas áridas donde las formas inorgánicas son más abundantes. El S inorgánico de los suelos de las regiones áridas puede acumularse y precipitar como

yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Havlin *et al.*, 1999). La fuente principal de S para los cultivos, cuando no se aplican fertilizantes azufrados, es la materia orgánica. La relación C/S determina si la actividad microbiológica resulta en la mineralización (menor a 200) o en la fijación biológica o inmovilización (superior a 400) del S (Guerrero, 1999).

2.11.2 Formas

En los suelos calcáreos mucho del S existe como SO_4^{2-} coprecipitando o cristalizando con el CaCO_3 y las formas orgánicas constituyen una pequeña porción del S total. De igual manera, en los suelos de zonas áridas las sales inorgánicas donde participa el ion SO_4^{2-} , mezclado con el carbonato de calcio, yeso y epsomita ó MgSO_4 , puede acumularse en los horizontes superficiales, debido a la escasa cantidad de agua que se percola por el perfil del suelo (Freney, 1986; Trudinger, 1986).

2.11.3 Procesos de óxido-reducción

El S presenta estados de oxidación desde -2 hasta +6. Los compuestos naturales del S, tanto inorgánicos, de los fertilizantes, así como de los suelos con enmiendas orgánicas, presentan una estructura y composición simple; aunque existen excepciones como el S^0 que puede formar cadenas de ocho átomos y los polisulfuros. El S existe en los suelos en estado gaseoso, en solución y sólido. El estado gaseoso es temporal. La vida media del SO_2 , SO_3 , y H_2S en los suelos es de unos pocos minutos porque se oxida rápidamente a H_2SO_4 . Cuando se adiciona S^0 al suelo, pueden presentarse pequeñas cantidades de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, y tal vez SO_3^{2-} después de un mes o más de su adición (Havlin *et al.*, 1999).

Los compuestos con S reducido más comunes incluyen al S elemental, H_2S , sales sulfurosas (S^{2-}), polisulfuros, tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), tetrionato ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$), sulfito (SO_3^{2-}) y politionatos. La oxidación de estos compuestos bajo condiciones aeróbicas puede realizarse química y microbiológicamente (Brady y Weil, 1999; Guerrero, 1999).

Entre los factores que influyen en la oxidación del S en los suelos se encuentra: tipo de suelo, tamaño de sus partículas, pH, temperatura, y la influencia de plaguicidas aplicados (Brady y Weil, 1999; Guerrero, 1999). La temperatura del suelo afecta la oxidación del S⁰ por su influencia en la actividad microbológica, principalmente cuando las tensiones de humedad son cercanas a la capacidad de campo (CC). La oxidación del S se incrementa a medida que el tamaño de su partícula disminuye.

2.11.4 Adsorción

Los hidróxidos del Fe y Al y los bordes de las partículas minerales arcillosas son responsables de la adsorción de SO₄²⁻ en los suelos, y la cantidad depende del número de sitios externos. La adsorción en los suelos tropicales varía con el mineral dominante en el siguiente orden: óxidos hidratados amorfos > óxidos cristalinos > arcillas caoliníticas > arcillas 2:1. La cantidad de SO₄²⁻ adsorbido por los suelos disminuye al incrementarse el pH de 4 a 7. La mayor adsorción de iones ortofosfato en los suelos es la base de algunos métodos para extraer SO₄²⁻. El aumento en la concentración de H₂PO₄⁻ conduce a la desorción del SO₄²⁻. El orden de retención es fosfato > citrato > sulfato (Pasricha y Fox, 1993; Brady y Weil, 1999).

2.12 El fósforo en el suelo y los EPT

2.12.1 Importancia

El fósforo es un elemento esencial para todos los organismos vivos y con frecuencia un factor limitante en la fertilidad de los suelos (O'Neill, 1993). La baja solubilidad de los compuestos inorgánicos limita su disponibilidad como nutriente. Lindsay *et al.*, (1989) mencionaron que la deficiencia en plantas constituye el segundo problema más importante en la fertilidad del suelo.

La determinación directa de minerales fosfatados en suelos es difícil debido a que el P es sólo un constituyente menor en los suelos, fluctuando usualmente de 0.02 a 0.5% con un promedio de 0.05% (Brady y Weil, 1999). El fósforo en los suelos existe como compuestos orgánicos e inorgánicos. El humus, estiércoles y otros tipos de materia orgánica no humificada son las mayores fuentes de fósforo orgánico en los suelos (Tan, 1994). Así, los minerales fosfatados incluyen sólo una pequeña parte de la matriz inorgánica total de los suelos.

En la mayoría de los casos, el fósforo está presente como grupo ortofosfato, PO_4^{3-} , unido a un catión en compuestos inorgánicos insolubles o como un compuesto de moléculas orgánicas (O'Neil, 1993). Los compuestos inorgánicos típicos son la apatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F}, \text{OH})]$, el fosfato de calcio $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$, el fosfato de aluminio (AlPO_4) y el fosfato de hierro (III) FePO_4 (O'Neil, 1993; Tan, 1994).

2.12.2 Especies de fosfato en la solución del suelo

Numerosos iones de fosfato, pares de iones y complejos, están presentes en la solución del suelo. Los ortofosfatos son las formas más estables de fosfato en los suelos y en el intervalo normal de pH, H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} son las especies dominantes en el suelo. A pH de 7.2, los dos iones tienen actividades iguales y cambian su relación por un factor de 10 por cada unidad de cambio en el pH. Conociendo la actividad de alguna de las especies de ácido ortofosfórico, junto con el pH, permite calcular las otras especies (Tan, 1994).

Los polifosfatos también ocurren como especies iónicas en solución. Cuando el pirofosfato está presente, los iones $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$ y $\text{HP}_2\text{O}_7^{3-}$ son las especies en solución predominantes en el intervalo de pH de la mayoría de los suelos (O'Neill, 1993).

A pH 6.6, estos dos iones tienen actividades iguales y cambian su relación por un factor de 10 por cada unidad de cambio en el pH (Enfield y Ellis, 1983; Lindsay *et al.*, 1989). Las especies de polifosfato como el trifosfato y el tetrafosfato tienen además especies iónicas dependientes del pH. Aunque muchos fertilizantes fosfatados modernos contienen polifosfatos, todos son inestables en los suelos y eventualmente se hidrolizan a ortofosfatos.

Los iones fosfato se combinan con muchos cationes divalentes y trivalentes para formar pares de iones y complejos. Aunque el ion H_2PO_4^- es el fosfato predominante a pH por debajo de 7.2, otros complejos de fosfato de Fe y Ca llegan a ser significativos (Lindsay *et al.*, 1989; Sposito, 2008). A pH alto, las especies en solución, CaHPO_4^0 , MgHPO_4^0 y CaPO_4^- , son importantes y contribuyen a la movilidad total del fosfato en los suelos. Además, podrían ser considerados en modelos de especiación para calcular la actividad del fosfato del P total en solución.

Muchos elementos traza en los suelos forman fosfatos insolubles. Sin embargo, de acuerdo con los diagramas de estabilidad, algunos fosfatos de elementos traza como Zn, Cu, Co, Cd y Pb muestran ser solubles (Sposito, 2008). Una excepción es el Pb, cuyos minerales fosfatados son suficientemente estables y persisten en los suelos.

2.13. Aspectos físico-químicos de la inmovilización de EPT por enmiendas al suelo

Como ya se mencionó con anterioridad, el pH del suelo, el contenido de humedad, las condiciones redox, la materia orgánica, los minerales arcillosos y el contenido de óxidos de Fe, Mn y Al, son factores importantes que afectan la especiación y la biodisponibilidad de elementos traza (Mench *et al.*, 1998; Boisson *et al.*, 1999; Kumpiene *et al.*, 2008).

Los metales necesitan ponerse en contacto con las raíces como un prerrequisito para su ingreso en ellas. Esto permite la localización de metales en la proximidad inmediata de la raíz o rizosfera (Adriano, 2001). Las raíces de las plantas y su asociación con microorganismos son responsables de una modificación activa de las propiedades físicas y químicas del suelo adyacente, y de esta forma tienen una influencia importante sobre la biodisponibilidad de elementos (Mench *et al.*, 1998).

La interacción de estos parámetros físico-químicos y biológicos puede determinar la distribución de metales en las fases de solución y sólida del sistema suelo, el cual establece la movilidad y biodisponibilidad de los metales (Laperche *et al.*, 1996).

La inactivación *in situ* incluye el uso de los procesos físico-químicos y biológicos en la inmovilización del metal en el suelo. Mench *et al.*, (1998) y Kumpiene *et al.*, (2008) señalan que los procesos químicos que pueden afectar la distribución de los metales sobre las fases soluble y sólida son:

- Complejación en solución
- Adsorción específica [arcilla, materia orgánica del suelo, metal (hidr)óxidos]
- Intercambio iónico (arcilla)
- Precipitación/disolución/coprecipitación
- Formación de una solución sólida (una mezcla sólida estable de dos o más sólidos).

La estabilización de suelos contaminados con elementos traza es una técnica de remediación empleada para reducir la movilidad del elemento en los suelos por la adición de agentes inmovilizantes (Kumpiene *et al.*, 2008). El último propósito es reducir la solubilidad del metal a un punto donde hay un límite sensitivo para cambios en los parámetros físico-químicos del suelo y una muy baja accesibilidad y sensibilidad para los procesos biológicos y químicos (Mench *et al.*, 1998).

La sorción de EPT sobre una superficie mineral puede ser resultado de varios mecanismos concomitantes (Mench *et al.*, 1998). Estos pueden resumirse como:

- a. Cuando un ion es fijado a una superficie mineral por fuerzas coulombicas de amplio intervalo, prolonga la retención del agua de hidratación, se mantiene dentro del enjambre difuso del ion o forma un complejo de esfera-externa con los grupos reactivos de superficie.
- b. Cuando el ion pierde algunas de sus moléculas de agua de hidratación y llega a estar unido directamente a la superficie por fuerzas de corta extensión (enlace químico), forma un complejo superficial en el interior de la esfera con la superficie de grupos reactivos.
- c. Cuando el complejo en el interior de la esfera involucra polímeros sorbidos, eventualmente ocurre la nucleación superficial y la subsecuente precipitación, pero para esto, el producto de actividad de iones debe ser mayor que la constante de solubilidad de compuestos.
- d. Cuando el ion metálico sorbido se encuentra dentro de la matriz sorbente, puede ocurrir una red de difusión y/o coprecipitación.

Estos procesos determinan el probable estado químico de los elementos traza, su solubilidad y como consecuencia su comportamiento, así como el impacto sobre el ambiente. La cantidad de elementos traza sorbidos sobre una fase sólida depende primariamente de tres parámetros: la naturaleza del sólido, pH y la relación de concentración entre el elemento sorbido y el ligando (Mench *et al.*, 1998). Sin embargo, otros factores influyen directamente en la sorción: la concentración y tipo de elemento, la fuerza iónica, y la presencia de iones compitiendo (McBride, 1994).

En la mayoría de los casos, la reducción de la exposición de la raíz a un elemento traza dependerá de una disminución en su concentración en la solución del suelo y de la reacción de la mayoría de las formas química o biológicamente lábiles posteriores al tratamiento del suelo (Mench *et al.*, 1998).

La selección del aditivo puede basarse, en primera instancia, en el contenido total del elemento, en el conocimiento del carácter físico-químico del suelo, y la valuación del uso potencial del suelo (Mench *et al.*, 1998). Sin embargo, es útil para determinar la especiación de elementos por técnicas físicas, tales como la estructura fina de absorción extensa de rayos X (EXAFS) y la difracción de rayos X, y para combinar esta información con el comportamiento de EPT en plantas y su interacción con macro y micronutrientes.

Materiales alcalinos. El encalado puede considerarse como la más antigua y posiblemente la técnica de inmovilización más ampliamente adoptada para el suelo. La cal es un mejorador ampliamente conocido en la agricultura. La aplicación de cal combinada con materia orgánica ya se practicaba desde hace más de 50 años para remediar la fitotoxicidad de Cu en viñedos franceses. La cal dolomítica no sólo cambia el pH del suelo, sino que también induce las reacciones de hidrólisis del metal y la coprecipitación con carbonatos, actuando como un agente precipitante para metales en el suelo (Mench *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2000).

Sin embargo, cada metal requiere un pH específico para minimizar la solubilidad. La elevación del pH también puede movilizar aniones tóxicos como arseniatos y cromatos, o contaminantes orgánicos por incremento de las fracciones solubles de la materia orgánica. El encalado sólo es efectivo en el corto plazo y se requieren aplicaciones repetidas para mantener la inmovilización del elemento (Geebelen *et al.*, 2002; García *et al.*, 2004).

Minerales fosfatados. La mayoría de los estudios sobre la estabilización de Pb se han realizado usando diversas enmiendas conteniendo fósforo, tales como las apatitas naturales y sintéticas e hidroxapatitas (Kumpiene *et al.*, 2008). Los minerales de fosfato pueden sorber y coprecipitar metales traza. Mench *et al.* (1998) encontraron que en el caso de contaminación con plomo, la formación de hidroxipiromorfita [$Pb_5(PO_4)_3OH$] resultó ser la más importante.

La piromorfita y la hidroxipiromorfita se pueden formar por acción de algunos organismos como *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii* y *Cupriavidus metallidurans* (Levensan *et al.*, 2006).

La sorción de EPT (Cd, Cu, Ni, Pb y Zn) sobre superficies de hidroxiapatita indican que la superficie de complejación y coprecipitación es el mecanismo más importante para explicar la inmovilización de Zn y Cd (Xu and Schwartz, 1994). La disponibilidad de Cd y Zn en maíz fue reducida posterior a la enmienda con apatita en algunos suelos contaminados. La apatita resultó ser más efectiva que la cal en la disminución del contenido de Zn en hojas de cebada, especialmente en suelos con altas concentraciones de este elemento. Lindsay *et al.*, (1989) reportó las reacciones de apatita con Pb-acuoso, Pb intercambiable con resina y materiales del suelo contaminados con Pb.

Las enmiendas de fosfato adicionadas a suelos contaminados, reducen la movilidad del Pb por intercambio iónico y precipitación de minerales del tipo piromorfita [$Pb_5(PO_4)_3X$; X = F, Cl, B o OH]. Los minerales formados nuevamente tienen una solubilidad y bioaccesibilidad muy baja (Hettiarachchi *et al.*, 2001; Scheckel and Ryan, 2003) y no biodisponibles (Arnich *et al.*, 2003; Kumpiene *et al.*, 2008).

La piromorfita tiene un bajo producto de solubilidad ($K_s = 10^{-84.4}$) y su estructura la hace una de las fases fosfatadas de plomo más estables. Sus gránulos actúan como núcleos de cristalización y precipitación de otros elementos (Templenton *et al.*, 2003).

Óxidos de hierro y manganeso. Por muchos años se pensaba que los óxidos férricos y de manganeso hidratados poseían una estructura amorfa en su más alto estado de desorden (Manceau *et al.*, 1997). De hecho, tienen una propiedad coherente de dispersión de tamaño pequeño; éstos están compuestos de empaques cúbicos y hexagonales mezclados, donde cada par de capas aniónicas contiene, en promedio, el mismo número de cationes.

En contraste con los óxidos de Fe hidratados, la estructura de los óxidos hidratados de Mn (HMO) no parece estar relacionada a un MnO_2 polimorfo bien cristalizado (p.e. pirolusita, ramsdelita, todorokita, calcofanita) (Manceau *et al.*, 1997).

Los óxidos de manganeso tienen una función fundamental en los procesos redox y de adsorción en el suelo (Chen *et al.*, 2000). Los elementos traza interactúan con los óxidos de Mn en los suelos. Los minerales del grupo de la birnessita ($Na_4Mn_{14}O_{27} \cdot 9H_2O$), caracterizados por la presencia de Mn en estructuras desordenadas, son uno de los más extensos (Mench *et al.*, 1998). La filomanganato calcofanita ($ZnMn_3O_7 \cdot 3H_2O$) presenta fuertes similitudes con la birnessita ($Na_4Mn_{14}O_{27} \cdot 9H_2O$). Así, el fuerte enlace de metales como el Zn, Cd y Pb con los filomanganatos o los óxidos hidratados de Mn del suelo, pueden usarse para disminuir la movilidad de ETP en los suelos y la disponibilidad para los cultivos y otros organismos. Diversos trabajos se han realizado sobre este tipo de óxidos (Chen *et al.*, 2000; Sauve *et al.*, 2000; García *et al.*, 2004; Kumpiene *et al.*, 2008).

2.14 Aspectos generales del área de estudio

Gutiérrez *et al.* (1994) señalaron que la geología del valle del Mezquital está agrupada en: a) sedimentos de materiales clásticos con orígenes fluviales y aluviales, y vidrio de cenizas volcánicas y piedra caliza (con alta permeabilidad); b) rocas constituidas principalmente por materiales clásticos, con vidrio de cenizas volcánicas y lava extendida (con permeabilidad media); c) formaciones terciarias integradas por lava desarrollada con asociaciones de compuestos basálticos y andesíticos, rocas volcánicas con una composición que varía entre riolita y basalto, con depósitos locales de arcillas, sedimento y piedra caliza (prácticamente impermeable); piedra caliza y formaciones de mármol y piedra caliza en el norte y sudoeste del área (baja permeabilidad).

La temperatura media anual en el valle del Mezquital es de 17.4 °C, con una precipitación media anual de 502 mm, descendiendo desde 700 mm en la parte sudeste a menos de 400 mm en el Norte. La evapotranspiración es aproximadamente de 81.03 cm. La marcada diferencia en la disponibilidad de agua entre la época seca y lluviosa (junio a septiembre) hace esencial el riego para obtener altos rendimientos. El clima favorece la vegetación natural de chaparrales xerofíticos de diferentes tipos, predominantemente prados, cactus, agaves, palma Joshua (*Yucca sp*), y creosote (*Larrea sp*). Los mezquites son tan comunes que ellos dieron el nombre al valle.

En la actualidad la vegetación natural está presente sólo en las colinas, mientras que la mayoría de las tierras bajas están con cultivos bajo riego. Los principales cultivos que se desarrollan en el área son alfalfa y maíz (60-80% de toda el área), frijol, cebada, avena, trigo y algunas hortalizas como chile, coliflor, betabel, calabaza italiana y tomates (Gutiérrez *et al.*, 1994; Siebe y Cifuentes, 1995). La alfalfa es un cultivo muy popular debido a que tiene un ciclo vegetativo largo, es tolerante al boro, acepta más agua que otros cultivos y tiene un mercado seguro porque es utilizada como forraje para el ganado lechero, el cual abastece de leche a la zona metropolitana de la ciudad de México (ZMCM).

2.14.1 Propiedades de los suelos del valle del Mezquital, Hgo.

Los suelos reflejan la geología y la topografía local, los del valle del Mezquital se originaron de materiales aluviales y coluviales transportados desde colinas, resultado en perfiles de profundidad variada. Por otro lado, las áreas altas (tierras altas) tienen suelos formados *in situ* con una profundidad limitada menor de 25 cm. Tres tipos de suelo predominan: Typic Pellusterts (arcilloso fino, montmorillonítico, térmico), Calciustolls petrocálicos (arcilla fina, mezclada, térmica) y Haplustolls pachic (arcilla fina, mezclada, térmica) los cuales pertenecen a Vertisoles eutricos, Leptosoles rendzicos y mollicos y Feozems háplicos y cálicos, de acuerdo con la clasificación FAO (Gutiérrez *et al.*, 1994).

En el Distrito de Riego 88 hay Feozems háplicos y cálcicos, y Cambisoles eutrícos. Las características generales del suelo del Distrito 063 muestran valores de pH que oscilan entre 6.86-8.60 con algunos valores más altos de 9.0, siendo principalmente ligeramente alcalino. La conductividad eléctrica en el extracto de saturación varía generalmente entre 1.0 y 3.4 mS cm⁻¹, pero en algunos sitios con aguas subterráneas cercanas a la superficie y con texturas arcillosas (Usterts) la salinización ocurre debido a las condiciones que impiden el drenaje, mostrando conductividades eléctricas desde 8 a 40 mS cm⁻¹. Estos sitios representan aproximadamente 2000 ha del área total.

Los contenidos de materia orgánica varían desde 1.6 a 3.3% y en suelos sin riego de 0.3 a 2.58%. Mientras que los Pellusterts están libres de carbonatos o contienen no menos del 2% de CaCO₃, los Haplustolls presentan de 1 a 3% de CaCO₃ y los Calcistolls son calcáreos y contienen arriba del 18% de CaCO₃ en el horizonte Ap, y más del 50% en el horizonte petrocálcico (Gutiérrez *et al.*, 1994; Siebe y Cifuentes, 1995). Los suelos tienen una capacidad de intercambio catiónico media (mayor de 400 meq kg⁻¹), y la textura del suelo varía de franco a migajón-arcillo-limoso (Calcistolls y Haplustolls) y migajón arcilloso (Pellusterts). La mineralogía de arcillas está dominada por esmectitas (80-97%), pero también están presentes la illita y la caolinita.

El uso de aguas residuales para riego ha permitido cambiar páramos en vergeles e incrementar el rendimiento de los cultivos. Sin embargo, en esta región, se han contaminado el suelo y el agua, y se han reportado contaminantes en plantas, como consecuencia del uso de aguas residuales no tratadas (Vázquez, 1999; Cajuste *et al.*, 2000; Vázquez-Alarcón *et al.*, 2001), así como el efecto sobre los seres vivos cuando los EPT exceden los límites de concentración permisibles (Cajuste *et al.*, 1996, 1998).

3. OBJETIVOS

3.1 General

1. Evaluar el efecto de la adición de azufre y fosfatos sobre la disponibilidad de Pb, Cd y Ni, así como la capacidad acumuladora de Pb, Cd y Ni que tienen el maíz y la alfalfa.

3.2 Específicos

1. Evaluar el efecto que tiene la aplicación de ácido fosfórico sobre la distribución de Pb, Cd y Ni en las fracciones que constituyen la fase sólida del suelo.
2. Determinar los cambios producidos por el efecto de la rizósfera sobre la distribución de Pb, Cd y Ni en las fracciones que constituyen la fase sólida del suelo, mediante la aplicación de azufre.
3. Explicar el efecto combinado de la aplicación de ácido fosfórico y azufre, sobre la distribución de Pb, Cd y Ni en las fracciones que constituyen la fase sólida del suelo.
4. Estimar en invernadero la capacidad acumuladora de Pb, Cd y Ni que tienen el maíz y la alfalfa.

4. HIPÓTESIS

1. El fósforo aplicado inmoviliza el Pb en suelos contaminados con aguas residuales, al formar compuestos de baja solubilidad, como la piromorfita.
2. El fósforo aplicado inmoviliza el Cd en suelos contaminados con aguas residuales, al formar compuestos de baja solubilidad.
3. El fósforo aplicado inmoviliza el Ni en suelos contaminados con aguas residuales, al formar compuestos de baja solubilidad.
4. La aplicación de ácido fosfórico, solo o combinado con el azufre, disminuye el Cd ligado a componentes de la fase sólida del suelo, por lo que se incrementará su estabilidad en el suelo.
5. Las plantas de alfalfa tienen mayor capacidad de absorción y acumulación de Cd que el maíz, debido a su mayor requerimiento de Ca y Mg y a su continuo crecimiento vegetativo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del área de estudio

El valle del Mezquital se sitúa entre los 19° 53' y 20° 30' de latitud norte y los 98° 57' y 99° 30' de longitud oeste. Se divide en la mitad por la serranía de San Miguel, la cual se ramifica, a su vez, en diferentes desniveles. Su aspecto actual es el de un gran valle de forma irregular, limitado por montes de origen volcánico (Figura 2).

Valle del Mezquital, Hidalgo.

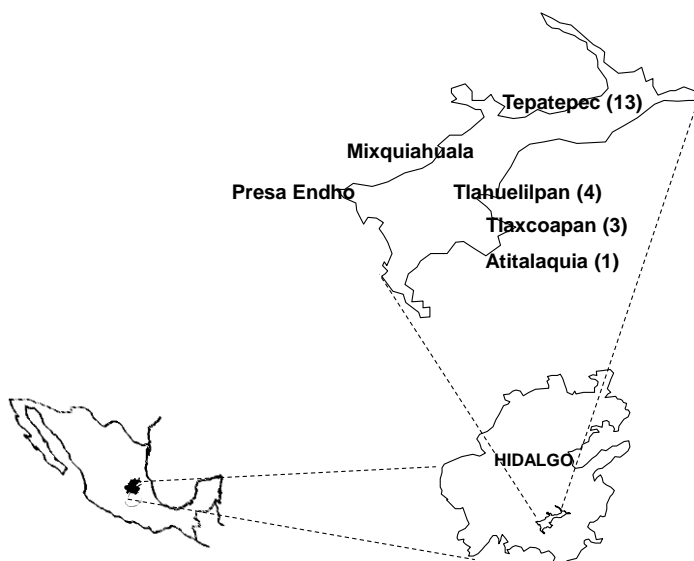


Figura 2. Ubicación del área de estudio y los sitios de muestreo.

Es una prolongación de la cuenca llamada Valle de México y está situada a 109 km al norte del Distrito Federal. Se encuentra en la parte sur del estado de Hidalgo, limitada al norte por la sierra de Juárez, al este por la serranía que va del cerro del Fraile a la sierra de Actopan, al sur por la serranía Mexe y al oeste por la sierra Xinthé (Vázquez, 1999). La región es parte de la cuenca del río Tula, la cual es la principal corriente en la vertiente oriental. El río Tula desciende en dirección sur-oeste y recibe algunos efluentes como los ríos Alfajayucan y San Juan; en la actualidad está fuertemente contaminado.

En la llanura, el clima es estepario y en las cimas que lo rodean existe mayor humedad. La temperatura media anual oscila entre 18 °C y 19 °C, y muestra grandes variaciones dentro de un día por efecto de la altitud. El período de heladas se presenta de noviembre a febrero, mientras que el periodo lluvioso ocurre de junio a septiembre, con un intervalo anual de precipitación de 200 a 500 mm (SRH, 1976).

Los suelos de la región se clasifican como Typic Calciorthids (Cajuste *et al.*, 1999; Luzio, 1982). La agricultura se practica desde la época precolombina, usando chinampas en las zonas cercanas a los ríos y arroyos; en las partes alejadas, ésta es de secano. En la época colonial, el cultivo del maguey se extendió por la demanda de pulque en los centros mineros.

La implementación de los sistemas de riego ha permitido el desarrollo de la agricultura desde principios del siglo XX, por lo que la vegetación natural ha sido, en su mayoría, desplazada por cultivos. En los terrenos no cultivados, la vegetación es la típica de las zonas desérticas: mezquite, agave fibroso, pirúl, nopal, lechuguilla, cardón, garambuyo y otros tipos de cactáceas.

En la parte montañosa, al norte del valle, la población arbórea ha disminuido notablemente por el excesivo uso de la leña, la producción de carbón (García *et al.*, 1998) y el desmonte para el incremento de la frontera agrícola, impulsada por el riego. La fauna se reduce a unas cuantas especies de mamíferos y reptiles; algunas aves acuáticas se han visto favorecidas por la forma de uso de suelo.

5.2 Descripción de las series de suelos

El estudio agrológico complementario del Distrito de Riego 003, efectuado por la Secretaría de Recursos Hidráulicos (SRH) en 1976, clasifica las series de suelos en función de su potencial agrícola y procedencia del material. Las características de estas series en la actualidad pueden haber sufrido modificaciones en sus propiedades físicas y químicas, debido al manejo de los suelos.

Serie Lagunillas. Los suelos de esta serie ocupan aproximadamente 4 756 ha y se localizan en los márgenes de los ríos que cruzan la región. Estos suelos son profundos, de topografía plana, con pendiente menor a 2%; originados por diversos materiales arrastrados por las corrientes, entre los que predominan las andesitas y riolitas; su formación es aluvial con desarrollo incipiente; el drenaje interno se considera deficiente en virtud de que dominan el perfil las texturas finas; sufren inundaciones periódicas por desbordamiento de los ríos o escurrimiento de las zonas altas adyacentes y el nivel freático se localiza aproximadamente a un metro de profundidad; el tipo de textura dominante es arcilla.

Serie Progreso. Esta serie ocupa 24 890 ha dentro del Distrito de Riego y se localizan en las lomas y cerros; por lo general son de poco espesor (menos de 50 cm), yacen sobre un material calizo que dificulta la penetración de las raíces y el paso del agua. Estos suelos se originan de una capa caliza consolidada y su modo de formación es *in situ* en las partes altas y coluviales en las laderas; la topografía es inclinada y fuertemente inclinada, con una textura predominante media fina, se encuentran texturas franco arenosas con coloraciones que varían de café claro y oscuro al café rojizo claro; en ocasiones canto rodados en la superficie; cuando el material calizo está a pocos centímetros de la superficie, el arado lo tritura e incorpora al suelo. El drenaje interno es regular y superficial, varía de rápido a muy rápido. Las texturas de suelo dominantes son arcilla Progreso, franco-arenoso Progreso, franco-arenoso-arcilloso y arcilloso-arenoso Progreso.

La clasificación agrícola de esta serie es de 2^a y 3^a clases, teniendo como factores limitativos el espesor del suelo, la topografía, la erosión y la pedregosidad.

Serie Tepatepec. Los suelos de esta serie ocupan 17 719 ha en el Distrito de Riego y representa 34% del total; con profundidad que varía de 50 a 150 cm, textura media y fina; coloración gris amarillo canelácea; topografía plana o inclinada de lomeríos originados de tobas; modo de formación *in situ*; por su grado de desarrollo se consideran medianamente intemperizados.

Descansan sobre una toba compacta sin llegar a ser cementada, en la cual se encuentran concreciones calcáreas acumuladas en forma de capas o bien acumuladas amorfas; su fertilidad es baja, en lo que respecta a nitrógeno, fósforo y potasio, aunque tiene abundante contenido de calcio asimilable; no presenta problemas de sales; su pH es ligeramente alcalino. En esta serie dominan los tipos franco-arcilloso-arenoso Tepatepec, franco-arcilloso Tepatepec y arcilla Tepatepec. En estos suelos prosperan bien cultivos como alfalfa, trigo, maíz, cebada, chile y jitomate, así como diversos frutales (chabacano, durazno, peral, ciruelo, higuera y manzano); dominan los suelos de 1ª y 2ª clases agrícolas, éstos últimos afectados por el factor suelo y la topografía.

Serie Actopan. Los suelos de esta serie comprenden 501 ha aproximadamente y se localizan en las vegas de los arroyos y ríos de la región; son profundos (200 cm); las texturas dominantes son gruesas; se originan por diversos materiales transportados por las corrientes en los que dominan las tobas y andesitas; su modo de formación es aluvial, con incipiente grado de desarrollo; la topografía es plana con pendiente igual o menor que 2%; el drenaje superficial es moderadamente deficiente; el drenaje interno es rápido, dadas las texturas arenosas que predominan en el perfil. Son suelos ideales para la producción de hortalizas, camote y papa. Estos cultivos están limitados por la Secretaría de Salubridad, debido a la contaminación que sufren los bulbos y tubérculos por el uso de aguas negras, por lo cual, se cultiva alfalfa y maíz; los tipos dominantes en esta serie son arcilla Actopan, franco-arcilloso Actopan y franco arenoso Actopan. Su clasificación agrícola es de 1ª clase.

Cerril. Con esta denominación se designaron aquellas zonas de suelo de 4ª clase agrícola, afectadas por diversos factores (topografía, suelo, erosión, pedregosidad, etc.) y cuyos perfiles son heterogéneos. En terrenos no cultivados, las especies vegetales que predominan son agaves fibrosos, pirul, mezquites, maguey y árboles frutales.

Es importante señalar que la adición de agua con materia orgánica ha modificado algunas de las propiedades de los suelos, como es el contenido de materia orgánica y el contenido de sales, solo por mencionar algunas. Estos cambios probablemente tengan fuertes implicaciones en algunas de sus propiedades y su capacidad para soportar los cultivos.

5.3 Muestreo de los sitios

Primer muestreo. Se realizó un muestreo exploratorio en trece sitios en el año 2002, los cuales se seleccionaron con base en el tiempo de uso del agua residual y tomando como referencia la caracterización de suelos de la región (SRH, 1976). En cada sitio se colectó una muestra compuesta, formada por 15 submuestras tomadas a una profundidad de 0 a 15 cm, en forma aleatoria, siguiendo una secuencia en zig-zag (Figura 3). Las submuestras se mezclaron y el volumen total de éstas se redujo por cuarteo, hasta obtener una muestra representativa de 2 kg.



Figura 3. Muestreo de los sitios seleccionados.

Se seleccionaron cuatro suelos para cubrir la variación de las propiedades y manejo de los mismos, para incluirlos en la siguiente fase experimental, tomando en consideración que Vázquez (1999), García y Cajuste (2000) y Cajuste *et al.*, (1999) han demostrado una correlación positiva entre el tiempo de uso del agua residual y la concentración de metales en el suelo, así como con algunas características de las muestras como textura, contenido de materia orgánica y reacción del suelo (pH).

Se realizó un segundo muestreo en estos suelos elegidos y se obtuvieron muestras compuestas en mayor volumen, para realizar pruebas en laboratorio e invernadero.

5.4 Caracterización de los suelos

En el Cuadro 1 se presenta la relación de las características físicas y químicas determinadas a las muestras de suelo, así como la metodología empleada.

Todos los análisis se hicieron por triplicado y las soluciones utilizadas se prepararon con agua desionizada, con una conductividad eléctrica menor a 0.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$, para la preparación de las soluciones. Los reactivos utilizados fueron grado analítico y se emplearon estándares certificados para la calibración de los equipos. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Química de Suelos, de la especialidad de Edafología del Colegio de Postgraduados.

Cuadro 1. Metodología empleada para determinar las características físicas y químicas de las muestras de suelo en estudio.

Característica	Metodología empleada
Textura	Gee y Bauder (1986)
Reacción del suelo (pH). rel. 1:2.5 suelo:agua destilada	Thomas (1996)
Conductividad eléctrica (dS m^{-1})	Richards (1985)
Carbonatos totales (% CaCO_3)	Loeppert y Suarez (1996)
Carbonatos activos (% CaCO_3)	Duchaufour (1970)
Materia orgánica (%)	Walkley (1947)
Fósforo extractable (mg kg^{-1})	Olsen y Sommers (1982)
Metales totales: Pb, Cd, Ni,	Bradford <i>et al.</i> (1975)
Metales extractables: Pb, Cd, Ni	Lindsay y Norvell (1978)

La reacción del suelo (pH) se determinó en una mezcla 1:2.5 de suelo:agua destilada, con un potenciómetro Orion modelo A750 (Thomas, 1996).

Los metales totales se determinaron siguiendo el procedimiento propuesto por Bradford *et al.*, (1975), con HNO₃ 4 M; los metales extractables se extrajeron con DTPA-TEA-CaCl₂, (Lindsay y Norvell, 1978) y se cuantificaron con un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer, modelo 3110).

5.5 Experimentos en laboratorio

Incubación de suelo con azufre y ortofosfato

El objetivo de este experimento fue disminuir gradualmente el pH de los suelos, hasta obtener un valor estable y constante de la reacción y conocer el tiempo de equilibrio (días) para hacer incubaciones en el invernadero. Asimismo, simular las condiciones particulares de acidez que presenta la rizósfera, para observar los cambios que manifiestan los metales en sus diferentes fracciones (soluble en agua, intercambiable, ligada al carbonato, ligada a los óxidos de Fe y Mn, ligada a los compuestos orgánicos, y residual).

Se incubaron los cuatro suelos seleccionados, para lo cual se pesaron 200 g de cada uno y se colocaron en frascos de color ámbar. Se adicionaron dosis crecientes de azufre agrícola (0.0, 2.0, 4.0 y 6.0 t ha⁻¹), manteniendo la humedad a capacidad de campo. Los frascos se colocaron en una estufa con aireación continua, a una temperatura de 38°C durante cinco semanas. Una vez por semana se determinó la reacción del suelo y la conductividad eléctrica. El potenciómetro se calibró en cada serie de 15 muestras leídas, con soluciones buffer certificadas de pH 4.0, 7.0 y 10.0.

Se aplicó azufre para disminuir el pH del suelo y permitir una mejor reacción de los metales con el fósforo, debido a que la concentración de los metales solubles se incrementa a pH ácido, bajo el supuesto de que al solubilizarse los metales puedan reaccionar con el fósforo y formar compuestos de baja solubilidad y, por consecuencia, sean poco asimilados por la planta.

Después del periodo de incubación con azufre, a las muestras de suelo se agregaron dosis crecientes de P (ácido fosfórico) (0, 250, 500, 1000 y 2000 mg kg⁻¹) y se incubaron durante dos semanas. Al final del periodo de equilibrio, en cada tratamiento, se tomó una submuestra de suelo para determinar la reacción del suelo y la conductividad eléctrica, en seco y en húmedo, así como para hacer el fraccionamiento de los metales. El objetivo de este análisis fue ver cómo cambiaba la distribución de los metales en los componentes del suelo y saber cómo se afectaba su disponibilidad, al romper el sistema buffer.

Con los resultados obtenidos, se definieron las diferentes dosis aplicadas a las macetas en el invernadero. El análisis se hizo por triplicado y las fracciones se obtuvieron siguiendo el procedimiento descrito por Tessier *et al.*, (1979) de la siguiente forma: soluble, con agua desionizada; intercambiable, con MgCl₂ 1 M pH 7.0; ligada a carbonatos, con CH₃COONa.3H₂O 1 M regulado a pH 5.0 con ácido acético; ligada a los óxidos de Fe y Mn, con NH₂OH.HCl 1M; ligada a la materia orgánica, con HNO₃ 0.02 M y H₂O₂ 30%; y residual, con HNO₃ concentrado y una solución binaria de HClO₄ – H₂SO₄. Para cada fracción, las muestras de suelo se agitaron y centrifugaron a 2000 rpm, filtrándose en papel Whatman No. 42. Finalmente, estas se cuantificaron en un equipo de absorción atómica Perkin Elmer Modelo 3110.

Para algunos propósitos, las extracciones secuenciales de suelos pueden aportar mayor información que las extracciones individuales (Sposito *et al.*, 1982), ya que teóricamente con la extracción secuencial o fraccionamiento químico se solubilizan ciertas formas químicas específicas, dejando inalteradas otras. De aquí que el uso de esta metodología puede ayudar a entender mejor el comportamiento químico de los elementos en el suelo, ya que los metales traza, especialmente los multivalentes, pueden estar presentes en diferentes especies fisicoquímicas. Además, la determinación y caracterización de la naturaleza, formas y proporciones de los elementos es un paso esencial para proveer información necesaria para tomar decisiones respecto a su manejo (Uren, 1992).

5.6 Experimentos en invernadero

Para evaluar las curvas de respuesta a la adición de azufre y fósforo a los suelos y su efecto en la disponibilidad de metales, se tomó en consideración el pH de los suelos durante la incubación, por lo que se decidió seleccionar tres suelos con distinto pH para establecer el experimento en invernadero.

Las muestras de suelo de los tres sitios se incubaron en macetas con capacidad para 5 kg, durante cuatro semanas, sin aplicar azufre y con la dosis equivalente de azufre de 2 t ha⁻¹, ajustada a partir de los datos obtenidos en el ensayo de laboratorio. Posteriormente, éstas se trataron con tres dosis de fósforo (0, 1000 y 2000 mg kg⁻¹ suelo) y se dejaron incubar durante dos semanas, manteniendo la humedad a capacidad de campo, comprobando el contenido de agua por gravimetría.

Al término de la incubación se tomó una submuestra de suelo de cada maceta para formar una muestra compuesta y se determinó la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE) en seco y en húmedo. Después se sembró maíz blanco (*Zea mays* L.) y alfalfa valenciana (*Medicago sativa* L.) (Figura 4).



Figura 4. Cultivos de maíz blanco y alfalfa valenciana.

El diseño de tratamientos consistió de un factorial completo desbalanceado de 3 x 2 x 3. Los factores manejados: suelo, azufre y fósforo, con 3, 2 y 3 niveles cada uno, en dos cultivos y con tres repeticiones, haciendo un total de 108 unidades experimentales. Los tratamientos fueron: 0,0; 0,1000; 0,2000; 2,0; 2,1000 y 2,2000, t ha⁻¹ de azufre y mg kg⁻¹ de fósforo, respectivamente.

Como fuente de azufre se utilizó flor de azufre agrícola, con una pureza de 93%; mientras que para el fósforo se empleó ácido fosfórico grado analítico, con 85% de pureza.

Para evitar deficiencias nutrimentales durante el desarrollo de los cultivos, se aplicaron 100 mL de la solución nutritiva sin fósforo, a cada una de las macetas, una vez por semana hasta la cosecha (Waugh y Fitts, 1966). En el Cuadro 2 se presentan los componentes de la solución nutritiva utilizada.

Cuadro 2. Componentes de la solución nutritiva sin fósforo, empleada en el experimento de invernadero.

Solución abastecedora	g L ⁻¹	mL de abastecimiento por litro de solución nutritiva	Concentración final
KNO ₃ 1 M	101.00	50	0.05 M
MgSO ₄ .7H ₂ O 0.5 M	123.15	25	0.0125 M
Solución micronutriente ¹		10	
¹ Composición de la solución micronutriente			
Compuesto	g L ⁻¹	mL	
H ₃ BO ₃ 11.5 mM	1.550	2	2.31 µM
MnSO ₄ . H ₂ O 4.546 mM	0.768	2	9.09 µM
ZnSO ₄ . 7H ₂ O 2.01 mM	0.580	2	4.03 µM
CuSO ₄ . 5H ₂ O 0.320 mM	0.080	2	0.64 µM
H ₂ MoO ₄ . 4H ₂ O 0.0854 mM	0.020	2	0.17 µM

La cosecha de maíz se realizó después de 45 días de la siembra, las plantas se cortaron desde su base y se colocaron en bolsas de papel perforadas. Luego se llevaron al laboratorio, se lavaron con agua corriente y agua destilada, se secaron con toallas de papel, se volvieron a colocar en bolsas de papel y se metieron a secar en una estufa con aireación continua a 78 °C, durante 72 h.

Posteriormente, las plantas se pesaron en una balanza analítica, se molieron en un molino Wiley y se depositaron en bolsas de papel celofán, para su posterior digestión y análisis, con un espectrofotómetro de absorción atómica.

El primer corte de alfalfa se realizó 50 días después de la siembra; los tres cortes siguientes se hicieron cada 35 días. Para el análisis de las muestras de alfalfa se siguió el mismo procedimiento descrito para el maíz.

Para cuantificar el contenido total de metales en el tejido vegetal de maíz y alfalfa, se realizó una digestión ácida con una solución binaria de ácido nítrico-ácido perclórico (Ministry of Agriculture Fisheries and Food, 1986) y el digestado se recuperó con ácido nítrico 0.2 N, se filtró en papel Whatman 40 y se refrigeró hasta su análisis, el cual se efectuó con un espectrofotómetro de absorción atómica.

Con la finalidad de determinar si la aplicación de azufre y fósforo inducen la formación de otros minerales e identificar los minerales predominantes en las muestras, después del experimento en invernadero, las muestras de suelo se analizaron por difracción de rayos x, con un equipo GBC, con emisión de tubo de cobre y en un intervalo de ángulo 2Φ de X1 a X2 grados (Stoops, 1992). Para identificar los minerales arcillosos se utilizaron los índices de Fink.

Al final de la cosecha, también se tomó una submuestra de suelo en cada maceta, para determinar el contenido de fósforo extractable, con el propósito de conocer su concentración disponible para la planta.

5.7 Análisis estadístico

Para el control de la calidad de los análisis se usaron muestras control preparadas en el laboratorio, usando como referencia el promedio y su desviación estándar. Para los análisis de metales se estimó el límite de detección usando la desviación estándar (3σ) de la lectura de 20 muestras blanco, como lo describe Wels y Sperling (2007).

Durante la cuantificación de los EPT, el equipo se calibró periódicamente, y se comprobó la calibración usando un estándar de revisión. Los datos de las diferentes variables se sometieron al análisis de varianza utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS) versión para PC (SAS, 1999). En las variables que presentaron efecto significativo, se realizó una prueba de rangos múltiples de Tukey ($\alpha < 0.05$); además, se efectuó un análisis de correlación para conocer el grado de asociación entre las variables estudiadas.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Muestreo de suelos

Esta investigación se realizó en tres fases que incluyen selección y muestreo de los suelos, experimentos de incubación en laboratorio e invernadero y experimentos con plantas en invernadero.

6.1.1 Primer muestreo

En el Cuadro 3 se listan las localidades donde se colectaron las muestras de suelo en el muestreo exploratorio, con el propósito de seleccionar los sitios para el trabajo en el laboratorio e invernadero. Los sitios se eligieron tomando en consideración características como pH, contenido de materia orgánica y años de riego con aguas residuales, para observar la variación en la concentración de metales pesados, por su manejo. Se tomó como base la información proporcionada por el personal del Distrito de Riego 063, de Mixquiahuala, Hidalgo, para el muestreo exploratorio.

Cuadro 3. Ubicación geográfica de los sitios muestreados en el valle del Mezquital, Hgo.

Sitio	Localidad en Hidalgo	Coordenadas	Años de riego
1	Ejido San Luis, Atitalaquia	20° 06.951 N; 99° 13.477 O	30
2	Rancho Chelita, Atitalaquia	20° 04.587 N; 99° 12.367 O	80
3	Ejido Tlaxcoapan		45
4	Ejido San Francisco, Tlahuelilpan	20° 07.851 N; 99° 14.310 O	70
5	Presa Endho		45
6	Tlaxcoapan, La Calzada		60
7	Tezontepec, Carretera a Mixquiahuala	20° 09.178 N; 99° 13.955 O	55
8	Mixquiahuala, Rio Tula	20° 14.384 N; 99° 13.821 O	40
9	Palmillas	20° 13.232 N; 99° 12.198 O	40
10	Colonia El Jardín	20° 20.666 N; 99° 12.200 O	30
11	Ranchería, Xochitlán	20° 17.636 N; 99° 11.420 O	25
12	Dos Cerros	20° 14.429 N; 99° 08.367 O	50
13	Carretera Tepatepec-Actopan	20° 14.526 N; 99° 04.582 O	50

El análisis mecánico de las muestras de suelo mostró una amplia variación en la distribución del tamaño de partículas; en el caso de las arcillas, los valores oscilaron de 17% a 71%, el contenido de arena varió de 7 a 62% (Cuadro 4), con texturas de franco

arenoso a arcilla, respectivamente (Wolf, 1999); la reacción del suelo (pH) mostró valores de 6.7 (neutro) a 8.6 (fuertemente alcalino), con un promedio de 7.8 (Jones y Wolf, 1984), lo que implica una capacidad amortiguadora de los suelos muy alta en términos de pH. La conductividad eléctrica (CE) varió de 0.360 a 1.242 dS/m, estimándose sin efectos restrictivos para el establecimiento de cultivos como el maíz y la alfalfa; sin embargo, en los suelos con más años de riego se observaron valores más altos de CE (Richards, 1985).

El análisis de correlación (Cuadro 1A) efectuado a las propiedades físicas y químicas de las muestras de suelo indica que la reacción del suelo (pH) afecta de forma negativa el contenido de plomo total ($r=-0.733^{**}$), mientras que la relación entre el pH y el tiempo de uso del agua de riego presentó correlación negativa significativa ($r=-0.819^{**}$), lo que implica que, aparentemente, el tiempo de riego induce la disminución del pH del suelo.

Cuadro 4. Tamaño de partícula, pH y CE de las muestras de suelo colectadas en el valle del Mezquital, Hgo.

Sitio	Análisis mecánico (%)			Clasificación ¹	pH rel. 1:2.5	Clasificación ²	C.E. dS m ⁻¹
	Arena	Arcilla	Limo				
1	44.92	25.08	30.00	Franco	8.5	Fuertemente alcalino	0.540
2	12.92	57.08	30.00	Arcilla	6.7	Neutro	0.609
3	24.92	51.08	24.00	Arcilla	8.4	Fuertemente alcalino	0.630
4	30.92	43.08	26.00	Arcilla	7.4	Alcalino	0.360
5	62.92	17.08	20.00	Franco arenoso	7.7	Alcalino	0.469
6	6.92	71.08	22.00	Arcilla	7.9	Alcalino	0.609
7	46.92	31.08	22.00	Franco-arcilloso-arenoso	7.6	Alcalino	0.891
8	44.92	33.08	22.00	Franco arcilloso	7.8	Alcalino	0.984
9	52.92	23.08	24.00	Franco-arcilloso-arenoso	8.0	Alcalino	0.609
10	48.92	21.08	30.00	Franco	8.6	Fuertemente alcalino	1.172
11	8.92	63.08	28.00	Arcilla	8.4	Fuertemente alcalino	0.562
12	26.92	41.08	32.00	Arcilla	7.8	Alcalino	1.242
13	26.92	37.08	36.00	Franco arcilloso	7.0	Neutro	0.405

C.E.= Conductividad eléctrica

¹ Propuesta por Wolf (1999)

² Propuesta por Letelier (1967)

El contenido de materia orgánica varió de medio (2.3%) a extremadamente rico (7.4%), de acuerdo con la clasificación de Tavera (1985) propuesta para suelos. Se observó tendencia a incrementarse el contenido de materia orgánica con el aumento de los años de riego con aguas residuales sin tratamiento, lo que puede provocar diversos cambios en algunas de sus propiedades químicas (Gutiérrez *et al.*, 1994).

Con relación a los carbonatos totales y activos, los valores oscilaron entre 1.04% y 4.48% para los primeros, y entre 0.36% y 1.05% para los segundos (Cuadro 5), esto indica alta reserva de carbono inorgánico y posiblemente capacidad de amortiguamiento. Estos valores están dentro del intervalo de contenido publicados por otros autores, por ejemplo, Gutiérrez *et al.* (1994), reportaron valores de CaCO₃ que van de 1% a 18%, dependiendo del tipo de suelo. El contenido de fósforo extractable se clasificó como alto en todos los sitios muestreados (36 a 258 mg kg⁻¹), lo que implica que hay de 90 a 645 kg ha⁻¹ de P₂O₅ disponible. Resultados similares reportaron Gutiérrez *et al.* (1994) en suelos del valle del Mezquital irrigados con aguas de desecho sin tratamiento.

Se encontró una correlación baja pero positiva entre el contenido de materia orgánica con las concentraciones de carbonatos totales ($r= 0.587^*$) y significativa con el fósforo extractable ($r= 0.845^{**}$), no resultando así para el contenido de carbonatos activos, cuya relación fue negativa ($r=-0.630^*$). También se presentó una asociación baja pero positiva entre los metales Cd-Pb ($r=0.667^*$) y Cd-Ni ($r= 0.600^*$) (Cuadro 1A).

Cuadro 5. Algunas variables fisicoquímicas de las muestras de suelo colectadas en el valle del Mezquital, Hgo.

Sitio	M.O. -%-	Clasificación ¹	Carbonatos (%)		P-Olsen mg kg ⁻¹	Metales totales ² (mg kg ⁻¹)		
			Totales	Activos		Pb	Cd	Ni
1	2.3	Medio	1.10	1.05	42	24	1.8	21.0
2	3.9	Rico	1.10	1.05	88	112	2.8	25.4
3	3.6	Rico	1.41	0.92	132	46	4.0	45.2
4	6.0	Extremadamente rico	1.17	0.49	173	104	7.6	38.6
5	4.6	Extremadamente rico	1.17	0.36	36	18	1.1	27.3
6	3.5	Rico	1.29	0.74	53	45	3.3	10.1
7	3.2	Rico	1.66	0.92	59	39	2.9	20.1
8	3.4	Rico	2.15	0.61	132	34	3.9	24.7
9	7.4	Extremadamente rico	4.48	0.61	258	66	4.5	33.4
10	5.9	Extremadamente rico	2.15	0.80	180	28	2.7	14.8
11	3.1	Medianamente rico	2.82	1.05	70	28	2.2	25.8
12	2.5	Medianamente rico	1.04	1.01	53	34	2.5	22.8
13	3.2	Rico	1.10	1.05	94	74	7.1	38.3

¹ Propuesta por Tavera (1985)

² Extraíbles con HNO₃ 4M

6.1.2 Segundo muestreo

Después de analizar los trece sitios muestreados y de observar la variabilidad en sus diferentes propiedades físicas y químicas, se tomó la decisión de seleccionar cuatro para un segundo muestreo (sitio 1 Atitalaquia, sitio 3 Tlaxcoapan, sitio 4 Tlahuelilpan y sitio 13 Tepatepec) para establecer los experimentos en el laboratorio e invernadero, tomando en consideración las siguientes características: textura y contenido de arcilla (25.08% para el sitio 1 y 51.08% para el sitio 3, es decir, suelos con mediano y alto contenido de arcilla), para evaluar la posibilidad de jugar con su capacidad de amortiguamiento con la aplicación de las enmiendas; pH de neutro a fuertemente alcalino (7.0 para el sitio 13 y 8.5 en el sitio 1), con valores de materia orgánica medios (2.3%) a extremadamente ricos (6.0%) (Cuadro 5).

Se consideró también que los sitios presentaran variación entre los años de riego con aguas residuales, así como concentraciones variables en los contenidos de fósforo extractable y metales totales.

A las muestras de los cuatro sitios seleccionados, adicionalmente se les determinó el contenido de metales extractables, observándose una relación aproximada de 10:1 entre metales totales y extractables (Cuadro 6), es decir, la extractabilidad de los metales de aproximadamente 10% del total.

Cuadro 6. Metales totales y extractables de las muestras de tres suelos seleccionados del valle del Mezquital, Hgo.

Sitio/Localidad	----- Metales totales ¹ (mg kg ⁻¹) -----			----- Metales extractables ² (mg kg ⁻¹) -----		
	Pb	Cd	Ni	Pb	Cd	Ni
1 Atitalaquia	24	1.8	21.0	2.4	0.23	1.2
3 Tlaxcoapan	46	4.0	45.2	4.5	0.55	1.8
4 Tlahuelilpan	104	7.6	38.6	18.8	1.85	8.4
13 Tepatepec	74	7.1	38.3	6.6	0.68	3.0

¹Extraíbles con HNO₃ 4M

²Extraíbles con DTPA.

6.2 Experimentos en el laboratorio

El objetivo que se planteó en esta fase fue evaluar la capacidad de los fosfatos para unirse con los metales y precipitarlos, pero por la acción residual ácida del fósforo, se necesitaba conocer la cantidad necesaria para romper la capacidad amortiguadora del suelo e inducir la reacción y precipitación con fosfatos. También se trató de observar los cambios que ocurrían en la biodisponibilidad de los metales, estimada a través de la extracción con DTPA. Como se decidió usar azufre como enmienda para ayudar a romper la capacidad amortiguadora de los suelos, se requería evaluar los cambios inducidos por la aplicación de azufre, y por último, observar la respuesta de los suelos ante estos cambios en términos de biodisponibilidad para las plantas.

También se simularon las condiciones particulares de acidez que presenta la rizósfera, sin modificar la cantidad de materia orgánica, para evaluar la biodisponibilidad de los metales y detectar los cambios que manifiestan éstos en las diferentes fracciones del suelo (soluble en agua, intercambiable, ligada al carbonato, ligada a los óxidos de Fe-Mn, ligada a los compuestos orgánicos, y residual).

6.2.1 Incubación de los suelos con azufre

Se aplicaron los tratamientos: T1 (0.0), T2 (2.0), T3 (4.0) y T4 (6.0) t ha⁻¹ de azufre agrícola a los cuatro suelos y se incubaron durante cinco semanas. Cada semana se determinó la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE) (Cuadros 2A y 3A). El Cuadro 4A muestra los valores promedio obtenidos durante el tiempo de incubación para ambas características, y en la Figura 5 se muestra gráficamente su comportamiento.

De acuerdo con el análisis de regresión, el pH disminuyó de manera significativa en los cuatro sitios con una ecuación de tendencia [pH= 8.59 - 0.244X y R²= 0.482], en función de los tratamientos aplicados de azufre.

En el sitio 3 (Tlaxcoapan) se detectó el mayor incremento de la CE con una tendencia exhibida por la ecuación $[CE= 0.577 + 0.258X \text{ y } R^2= 0.861]$; en contraste, el sitio 1 (Atitalaquia) fue donde menos cambio de CE se observó $[CE= 0.311 + 0.160X \text{ y } R^2= 0.958]$.

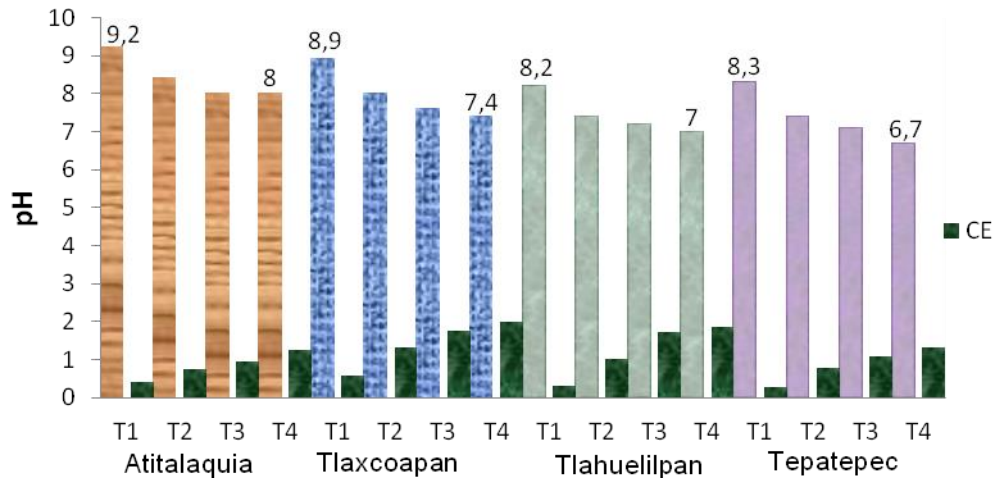
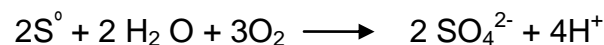


Figura 5. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE), en cuatro suelos incubados con azufre.

El análisis de correlación mostró efectos altamente significativos (Cuadro 5A) entre la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE) con las dosis crecientes de azufre aplicadas y con el tiempo de incubación. Se observó una correlación altamente significativa, pero negativa, entre el azufre aplicado y los valores de pH a través del tiempo de incubación ($r=-0.655^{**}$ en la primer semana y $r=-0.726^{**}$ en la quinta semana) (Cuadro 5A).

Cuando el S^0 se adiciona a los suelos, se oxida a ácido sulfúrico, el cual se disocia en iones SO_4^{2-} y iones H^+ .

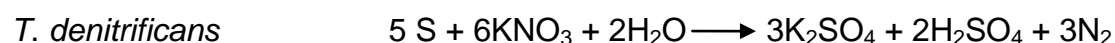
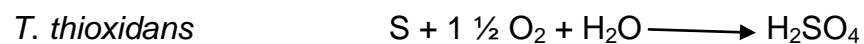


En algunos suelos, parte de la acidez es neutralizada por los iones OH^- liberados durante la adsorción y en el intercambio de ligandos de SO_4^{2-} . Se han observado incrementos en el pH del suelo debido a este proceso, comúnmente referido como efecto de autoencalado, sobre todo en suelos ricos en componentes de carga variable, como los óxidos de Fe y Al (Bolan *et al.*, 2003); sin embargo, en suelos con reacción alcalina el efecto del azufre puede cambiar dependiendo de la capacidad de amortiguamiento, ligada con algunos minerales como los carbonatos.

La aplicación de azufre tuvo un efecto altamente significativo y positivo sobre la conductividad eléctrica ($r=0.832^{**}$ en la primera semana y $r=0.862^{**}$ en la quinta semana) (Cuadro 5A). El efecto acidificante del azufre permitió solubilizar algunas sales, principalmente carbonatos, aumentando su concentración en la solución del suelo.

En los procesos de transformación del azufre, intervienen muchos microorganismos, especialmente las bacterias que pueden ser aeróbicas, anaeróbicas, heterotróficas, así como algunos hongos y actinomicetos.

Generalmente, la mayoría de los *Thiobacillus* pueden oxidar los sulfuros, el azufre elemental, los tiosulfatos y hasta los sulfitos o sulfatos; como se observa en las siguientes reacciones (Cajuste, 1977):



Sin embargo, en este documento no se incluyó el estudio de la participación y actividad microbiana en estos procesos.

De manera general, en los cuatro suelos el pH disminuyó con la aplicación de las dosis crecientes de azufre, mientras que el contenido de sales solubles aumentó aparentemente por incremento del sulfato en solución.

6.2.2 Incubación de los suelos con ortofosfato

A los cuatro suelos previamente incubados con azufre, se les aplicaron dosis crecientes de P (como H_3PO_4) (0, 250, 500, 1000 y 2000 mg kg^{-1}) con el fin de inducir la precipitación de Pb y otros metales en forma de fosfatos. Al finalizar las dos semanas de incubación con fósforo, se tomó una submuestra de suelo y se determinó el pH y la CE en húmedo y en seco (Cuadros 6A y 7A).

De manera general, los valores de pH disminuyeron con la aplicación de P solo o combinado con el S, mientras que los valores de la CE se incrementaron (Figuras 6, 7, 8 y 9). En estas Figuras se presentan únicamente los valores de pH y CE determinados en seco, con los tratamientos: T1 (0-0), T2 (0-2000), T3 (2-0), T4 (2-2000), T5 (4-0), T6 (4-2000), T7 (6-0) y T8 (6-2000) de azufre (t ha^{-1}) y fósforo (mg kg^{-1}), respectivamente, para los cuatro suelos. Se observó que el pH disminuyó con una ecuación de tendencia [$\text{pH} = 8.24 - 0.261X$ y $R^2 = 0.401$] en función de los tratamientos de fósforo aplicados.

En el sitio 3 (Tlaxcopan) se registró el mayor incremento de la CE con una ecuación de tendencia [$\text{CE} = 0.410 + 0.362X$ y $R^2 = 0.913$]; en contraste, en el sitio 1 (Atitalaquia) fue donde menos cambio de CE se observó [$\text{CE} = 0.652 + 0.156X$ y $R^2 = 0.485$].

El análisis de correlación efectuado a estas variables mostró un efecto negativo y altamente significativo entre los sitios y el pH, tanto en húmedo ($r = -0.542^{**}$) como en seco ($r = -0.522^{**}$) (Cuadro 8A). Por otra parte, la adición de S afectó negativamente el pH ($r = -0.577^{**}$ y $r = -0.582^{**}$, respectivamente); pero los valores de la CE se incrementaron de manera significativa ($r = 0.908^{**}$ en húmedo y $r = 0.885^{**}$ en seco).

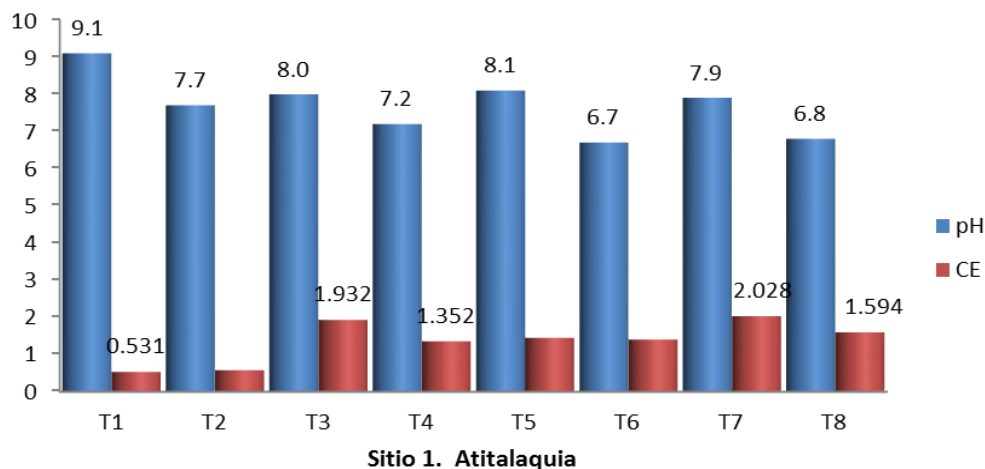


Figura 6. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 1, incubado con fósforo.

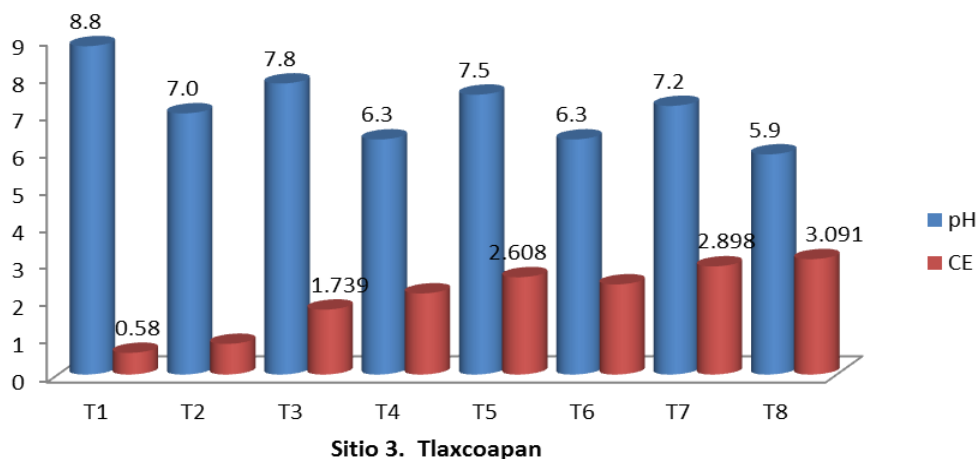


Figura 7. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 3, incubado con fósforo.

Las dosis de fósforo disminuyeron los valores de pH ($r=-0.523^{**}$), pero no afectaron a la CE (Cuadro 8A). El ácido fosfórico adicionado al suelo se disocia en fosfatos; entre pH 4.5 a 6.2 predominan las especies químicas HPO_4^{2-} y H_2PO_4^- , a pH mayores el ion PO_4^{3-} es el predominante. Parte de los H^+ es subsecuentemente neutralizado por los iones OH^- liberados durante la adsorción de los aniones por las partículas del suelo (Bolan *et al.*, 2003).

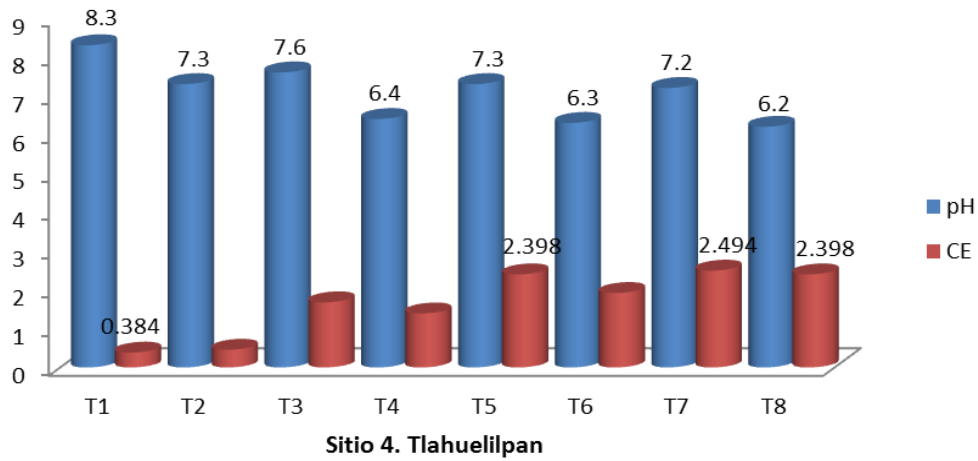


Figura 8. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 4, incubado con fósforo.

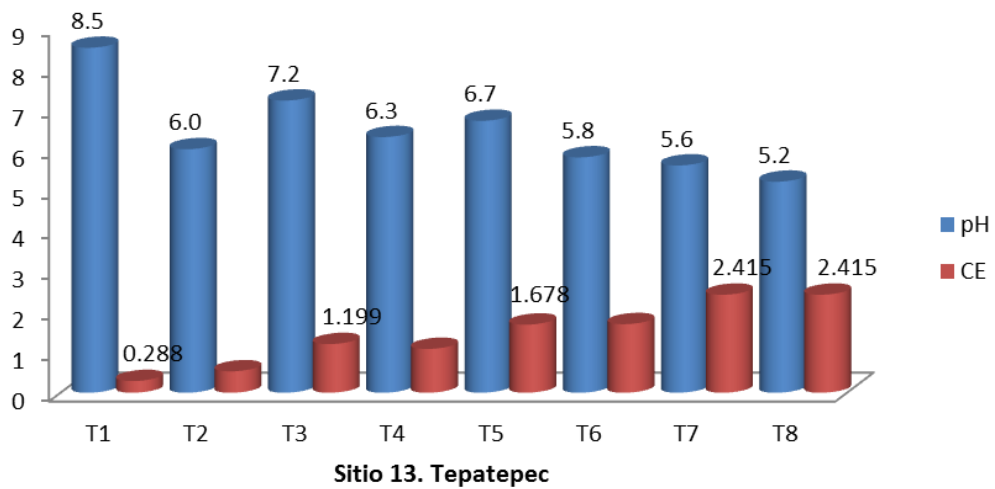


Figura 9. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 13, incubado con fósforo.

Es evidente que el pH tiene un efecto en las formas del P presentes en el suelo, pues los fosfatos de Ca predominan cuando el pH es elevado, mientras que los fosfatos de Fe y Al predominan en medio ácido (Ruby *et al.*, 1994). Asimismo, el cambio en el pH influye en la distribución de EPT sorbidos (Elzahabi y Yong, 2001).

Los suelos de los sitios 13 (Tepatepec) y 3 (Tlaxcoapan), mostraron los valores más bajos de pH, 5.2 y 5.9, respectivamente, cuando se les adicionó azufre y fósforo de manera conjunta (T8).

Por otra parte, los valores de pH de los suelos de los sitios 3 y 4 resultaron muy semejantes entre sí, como se muestra en los Cuadros 6A y 7A, por lo que se tomó la decisión de considerar sólo los suelos de los sitios 1 (Atitalaquia), 4 (Tlahuelilpan) y 13 (Tepatepec) para el trabajo de invernadero.

6.2.3 Fraccionamiento de metales

Considerando que la respuesta a los tratamientos sigue una tendencia regular, se cuantificó la concentración de plomo, cadmio y níquel, unidos a las diferentes fracciones en el suelo (Cuadros 7 al 12), únicamente en el testigo, T1 (0-0), y en los suelos que recibieron el tratamiento de fósforo sólo (mg kg^{-1}), T2 (0-2000), y azufre (t ha^{-1}) + fósforo, T8 (6-2000), dado que estos fueron los tres tratamientos extremos en el diseño experimental y se consideró que éstos pudieran explicar mejor la variación de las distintas fracciones. Esto sirvió como base para definir las diferentes dosis que se aplicaron a las macetas en el invernadero. Las interacciones S*P y Suelo*S*P no se presentan en los resultados de los tres metales analizados (Pb, Cd y Ni).

6.2.3.1 Plomo

El análisis de varianza de las diferentes fracciones de plomo, así como las interacciones entre suelos, azufre y fósforo, muestra diferencias altamente significativas (Cuadro 7).

La interacción suelo*azufre reflejó su efecto en las fracciones de Pb: soluble (FI), intercambiable (FII), ligada a carbonatos (FIII) y ligada a óxidos (FIV); mientras que el Pb-residual (FVI) fue la única fracción que no resultó afectada en la interacción suelo*fósforo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Valores de Fc para las diferentes fracciones de plomo y su interacción, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.

Fuente	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	1.46NS	13.70**	32.57**	1249.05**	283.73**	89.70**	1226.86**
S	0.77NS	36.00**	0.38NS	23.36**	54.46**	8.29*	0.11NS
P	14.55**	6.95*	75.54**	1.02NS	41.62**	14.17**	0.07NS
Suelo*S	10.89**	9.90**	7.06**	6.25**	2.47NS	0.91NS	0.09NS
Suelo*P	27.54**	8.41**	13.64**	7.87**	11.20**	0.56NS	0.07NS

** : Altamente significativo ($\alpha=0.001$)

* : Significativo ($\alpha=0.05$)

NS: No significativo

S= Azufre

P= Fósforo

Intercamb.= Intercambiable

MO= unidos a Materia Orgánica

Se observó que la sumatoria de los valores obtenidos en cada fracción resultó mayor que las concentraciones determinadas directamente en el suelo con HNO₃ 4M, esto quizá se deba a un efecto de la secuencia de extracciones a la que se somete al suelo, como lo han señalado Kim y McBride (2006) y también a que el tratamiento a la muestra para determinar la fracción residual fue más fuerte que la oxidación con HNO₃ 4M, pues de acuerdo con Canet *et al.* (1997) este procedimiento es para obtener los metales sorbidos en el suelo.

La prueba de Tukey para el fraccionamiento de Pb (Cuadro 8) muestra que la secuencia de acumulación de este elemento en el suelo del sitio 1 (Atitalaquia) es como sigue: FVI > FIII > FII > FIV > FV > FI.

Cuadro 8. Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de plomo (mg kg⁻¹), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.

Factor	Nivel	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	1 Atitalaquia	3.5a*	5.8b	7.7c	5.6c	4.7c	55.7c	83.0c
	4 Tlahuelilpan	3.2a	6.4b	10.6a	25.8a	12.0a	67.1a	125.1a
	13 Tepatepec	3.6a	7.6a	9.2b	12.4b	6.2b	63.8b	102.8b
Azufre	0	3.5a	6.0b	9.1a	15.2a	8.3a	61.4b	103.5a
	6	3.4a	7.8a	9.3a	13.5b	6.3b	63.6a	103.9a
Fósforo	0	3.1b	5.5b	10.7a	15.0a	9.4a	59.8b	103.5a
	2000	3.6a	7.1a	8.4b	14.4a	6.8b	63.4a	103.7a

Intercamb.= Intercambiable MO= unidos a Materia orgánica

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

Las Figuras 10, 11 y 12 no muestran la fracción residual de Pb (FVI), debido a que ésta sobrepasó el 50% del Pb total en el suelo, con relación al resto de las fracciones.

En la Figura 10 se presenta el porcentaje de plomo en cada fracción, para cada uno de los tres tratamientos analizados: T1 (0-0), T2 (0-2000) y T8 (6-2000). El Pb residual (FVI) representó 67% del total en el suelo, mientras que la segunda cantidad más alta de plomo (9.3% del Pb total) se asoció con la fracción ligada a los carbonatos (FIII).

La predominancia de Pb en la fracción residual, y en los carbonatos en la fracción no residual, reflejan la gran estabilidad del Pb en estas fracciones; esto parece indicar que el Pb del suelo resultaría menos disponible para las plantas (Kumpiene *et al.*, 2008).

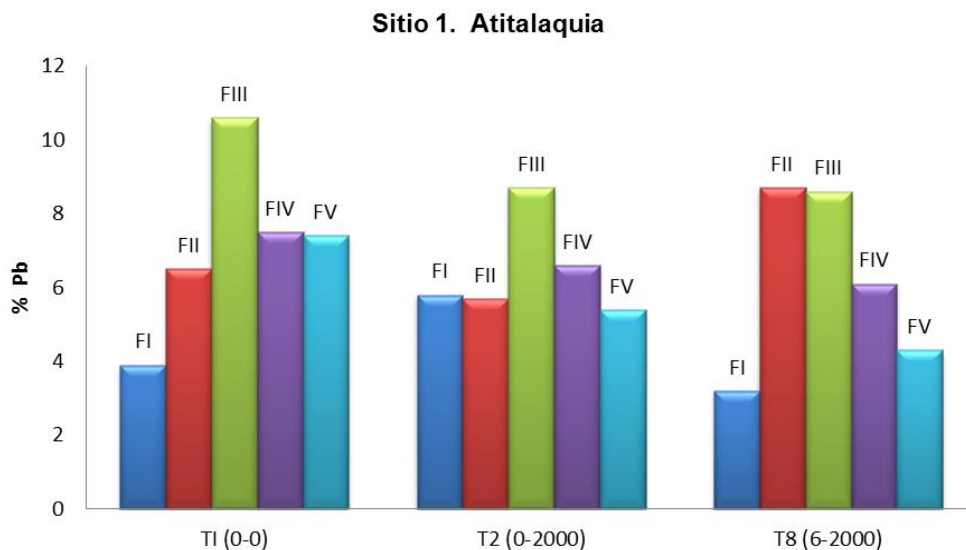


Figura 10. Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 1.

La fracción FI se incrementó con la adición de fósforo pero disminuyó con la aplicación conjunta de azufre y fósforo. La fracción FIII se redujo ligeramente con la aplicación de S y P pero sin ser estadísticamente significativa; salvo estas pequeñas variaciones, no se observaron cambios en la distribución de la fracción por los tratamientos aplicados.

La aplicación de fósforo tampoco afectó la distribución de las fracciones.

El suelo del sitio 4 (Tlahuelilpan) presentó la siguiente secuencia de acumulación: FVI > FIV > FV > FIII > FII > FI (Cuadro 8 y Figura 11), con 53.6% de Pb residual (FVI), es decir, Pb ligado a minerales primarios y secundarios no alterados por la extracción secuencial. El segundo contenido más alto de plomo (20.6% del Pb total) fue el de la fracción ligada a los óxidos de Fe-Mn (FIV), coincidiendo con los resultados que reportan Ramos *et al.* (1994), Angelova *et al.* (2004) y Kim y McBride (2006).

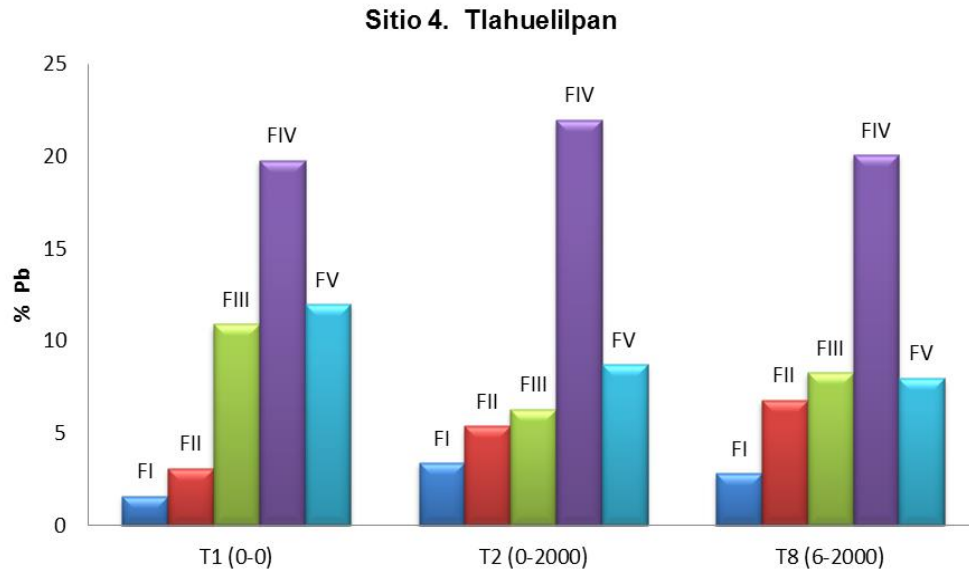


Figura 11. Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 4.

La tercera fracción importante para este elemento fue la ligada a la materia orgánica (FV), con 9.6% del Pb total. Resultados similares encontró Tessier *et al.* (1979). Esto se debe a que el Pb^{2+} tiene una fuerte afinidad con el ácido húmico, el cual generalmente se combina con la materia orgánica para formar complejos estables de Pb-orgánico (Angelova *et al.*, 2004). De acuerdo con Takamatsut y Yoshida (1978), la constante de estabilidad (log K) del Pb con ácidos húmicos es 8.35, considerando la variación natural de esta afinidad, dependiendo de la naturaleza de los ácidos, se puede sugerir que la fracción ligada a la materia orgánica tiene al menos un valor parecido.

La adición conjunta de S y P (T8) incrementó ligeramente la concentración de las fracciones: intercambiable (FII) y ligada a carbonatos (FIII), con respecto a las mismas fracciones cuando se aplicó el tratamiento sólo con fósforo (T2).

El orden de las diferentes fracciones en el suelo del sitio 13 (Tepatepec) fue: FVI, FIV, FIII, FII, FV y FI (Cuadro 8 y Figura 12) con un porcentaje de Pb en la fracción residual (FVI) de 62%. Los porcentajes de Pb ligado a los óxidos (FIV) y a los carbonatos (FIII) fueron de 12.1 y 8.9%, respectivamente. Según estos resultados, el plomo se une preferentemente a la fracción más estable del suelo y sólo una pequeña parte está en las fracciones soluble e intercambiable. Similares resultados reportaron Cajuste *et al.* (2000), con suelos de la misma zona.

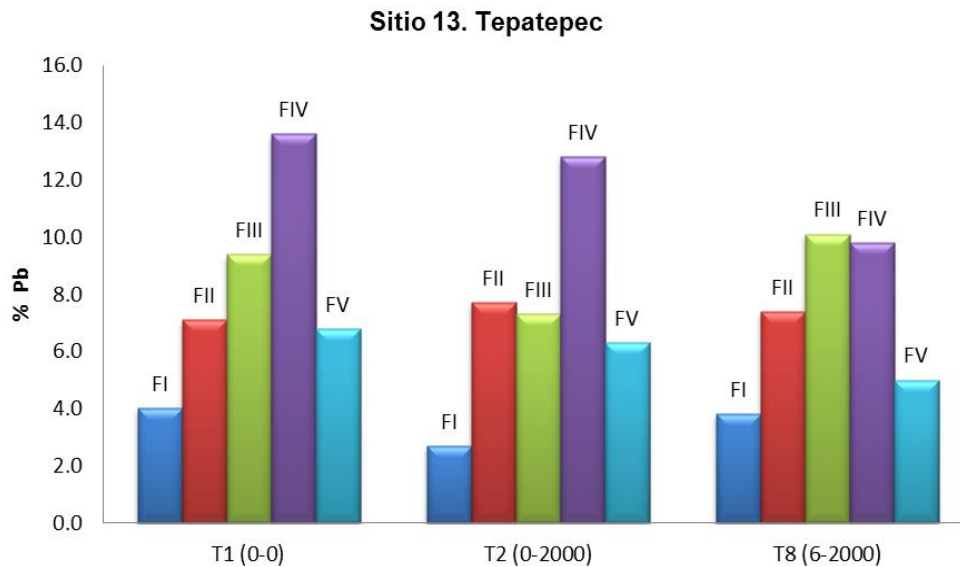


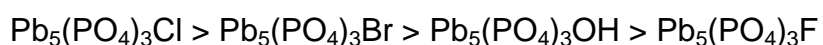
Figura 12. Porcentaje de plomo en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 13.

El contenido de carbonatos en los suelos fue un factor importante para que un porcentaje significativo de Pb se localizara en esta fracción. Es decir, el calcio presente en forma de CaCO_3 se solubilizó al aplicar el H_3PO_4 , permitiendo la formación de calcio soluble o intercambiable, que puede reaccionar con el fósforo introducido al sistema induciendo su precipitación.

La adición de azufre a los suelos favoreció la disminución del pH y por consiguiente, algunas fracciones de Pb como la ligada a óxidos (FIV) y a la materia orgánica (FV) se solubilizaron, liberando algo de Pb a la solución del suelo, el cual se asoció a la fracción intercambiable (FII), incrementando su concentración (Cuadro 8).

Miretzky y Fernandez-Cirelli (2008), señalaron que la presencia del plomo en los suelos está afectada por tres procesos: (1) precipitación como una fase mineral ligeramente soluble, (2) adsorción sobre la fracción arcillosa, los óxidos de Fe y Mn, los carbonatos alcalino térreos y (3) formación de complejos relativamente estables por interacción con la materia orgánica. Mencionan además, que la movilidad del plomo depende de muchos factores, tales como la especiación y contenido total en el suelo, tipo de suelo, pH, contenido de humedad y la infiltración de agua de lluvia. Más aun, la adsorción superficial de Pb es afectada por el pH del medio (Carrillo-González *et al.*, 2006).

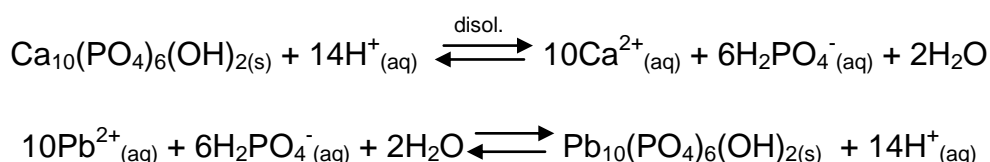
Se ha demostrado que los fosfatos de plomo son una forma muy estable de Pb en el ambiente (Ma *et al.*, 1993; Ruby *et al.*, 1994; Ryan *et al.*, 2001; Melamed *et al.*, 2003; Chrysochoou *et al.*, 2007). La relativa solubilidad de compuestos simples de Pb indican que los fosfatos de este metal son menos solubles, en condiciones de equilibrio, que los óxidos, hidróxidos, carbonatos y sulfatos bajo condiciones suelo-superficie (Ruby *et al.*, 1994). Estos mismos autores señalaron que los productos de solubilidad para los minerales comunes de piromorfita (cloro-, hidrox- y fluoro-) se han determinado en 10^{-84} a 10^{-72} , produciendo una secuencia de estabilidad termodinámica de:



En contraste, los productos de solubilidad del PbSO_4 (anglesita), PbCO_3 (cerusita), PbS (galena) y PbO (litarga) son 10^{-8} , 10^{-13} , 10^{-28} a 10^{+13} , respectivamente (Ruby *et al.*, 1994), que son un poco más solubles. La fuerte asociación entre P y Pb es muy importante en el control de la disponibilidad y fijación (Nriagu, 2003).

Los datos de solubilidad indican que las piromorfitas son substancialmente menos solubles que las formas de Pb generalmente encontradas en otros minerales (galena, anglesita, cerusita), en pintura [por ejemplo, $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$], litarga y las partículas presentes en la emisión efectuada por automóviles (Adriano, 2001). Sin embargo, el problema estriba en inducir su formación *in situ* por aplicación de fosfatos.

La fuente más atractiva de fosfatos es la hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] debido a su mediana abundancia y relativa economía, y lo más importante, la posibilidad de disolverla para reaccionar con el Pb:



Las reacciones anteriores forman un precipitado estable de hidroxipiromorfita [$\text{Pb}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] en ausencia de ligandos y metales que compitan (Laperche *et al.*, 1996). Sin embargo, Ma *et al.* (1994a,b) mencionaron que la formación de hidroxipiromorfita podría ser alterada por la presencia de altas concentraciones de Al, Cu, Fe, Cd, que compiten con el Pb^{2+} y CO_3^{2-} , por competencia por el fosfato y la variación en el pH.

Resumiendo, la aplicación de fósforo al suelo permite la formación de compuestos de fosfato de calcio y cuando éstos se encuentran en equilibrio, se forman los fosfatos de plomo, hasta alcanzar también el equilibrio, siempre que se tenga condiciones de pH cercanas al neutro, pues a pH ácido los compuestos metálicos manifiestan una tendencia a solubilizarse y ser absorbidos por las plantas.

Al correlacionar las fracciones de Pb con los suelos y con las dosis de S y P aplicadas (Cuadro 9A), se observó que el tipo de suelo afectó significativamente a la FII ($r=0.467^*$) y a la FVI ($r=0.416^*$). La adición de azufre a los suelos tuvo su efecto en la FII ($r=0.537^{**}$), en tanto que con la aplicación de fósforo, modificó significativamente a las fracciones FII ($r=0.473^*$) y FIII ($r=-0.510^{**}$).

6.2.3.2 Cadmio

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para las diferentes variables de respuesta muestran diferencias altamente significativas (Cuadro 9). Los suelos manifestaron diferencias en todas las fracciones de cadmio. Lo mismo que la interacción Suelo*S en las FI, FII, FIII y FIV; mientras que las FI, FIII, FIV y FV, resultaron significativas en la interacción Suelo*P (Cuadro 9), lo cual indica que las aplicaciones de fósforo reaccionaron con diferente intensidad, dependiendo del tipo de suelo.

Cuadro 9. Valores de Fc para las diferentes fracciones de cadmio, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.

Fuente	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	26.95**	1212.53**	664.09**	651.16**	146.95**	7.12**	70.93**
S	0.08NS	104.16**	4.67*	2.11NS	0.06NS	0.23NS	0.01NS
P	50.17**	0.04NS	43.93**	0.10NS	2.72NS	0.85NS	0.47NS
Suelo*S	11.64**	78.46**	5.81**	60.06**	6.94	0.07NS	0.09NS
Suelo*P	38.28**	2.67NS	12.14**	0.89**	11.92**	0.14NS	0.02NS

** : Altamente significativo ($\alpha=0.001$)

* : Significativo ($\alpha=0.05$)

NS: No significativo

S= Azufre

P= Fósforo

Intercamb.= Intercambiable

MO= unidos a la Materia Orgánica

De acuerdo con la prueba de Tukey para el fraccionamiento de Cd (Cuadro 10), en el suelo del sitio 1 se presentó el siguiente orden de acumulación del elemento: FVI > FII > FV > FIII > FIV > FI.

Cuadro 10. Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de cadmio (mg kg^{-1}), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.

Factor	Nivel	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	1 Atitalaquia	0.14b*	0.87c	0.38b	0.38b	0.40c	8.58b	10.75c
	4 Tlahuelilpan	0.16b	2.00a	1.01a	1.38a	1.03a	9.78a	15.36a
	13 Tepatepec	0.25a	1.44b	0.33c	0.41b	0.57b	9.85a	12.85b
Azufre	0	0.18a	1.37b	0.59a	0.74a	0.67a	9.46a	13.01a
	6	0.19a	1.57a	0.55b	0.70a	0.66a	9.30a	12.97a
Fósforo	0	0.13b	1.37b	0.66a	0.73a	0.70a	9.28a	12.87a
	2000	0.21a	1.47a	0.53b	0.72a	0.65a	9.47a	13.05a

Intercamb.= Intercambiable

MO= unidos a la Materia Orgánica

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

En la Figura 13 se presenta el porcentaje de cadmio en cada fracción, para cada uno de los tres tratamientos analizados con 0 y 6 t ha⁻¹ de S y 0 y 2000 mg kg⁻¹ de P: T1(0-0), T2(0-2000) y T8(6-2000). La fracción residual (FVI) correspondió al 79.8% del Cd total. Esta fracción no se reporta en la Figura de referencia. El segundo contenido más alto de Cd (8.1% del Cd total) perteneció a la fracción intercambiable (FII).

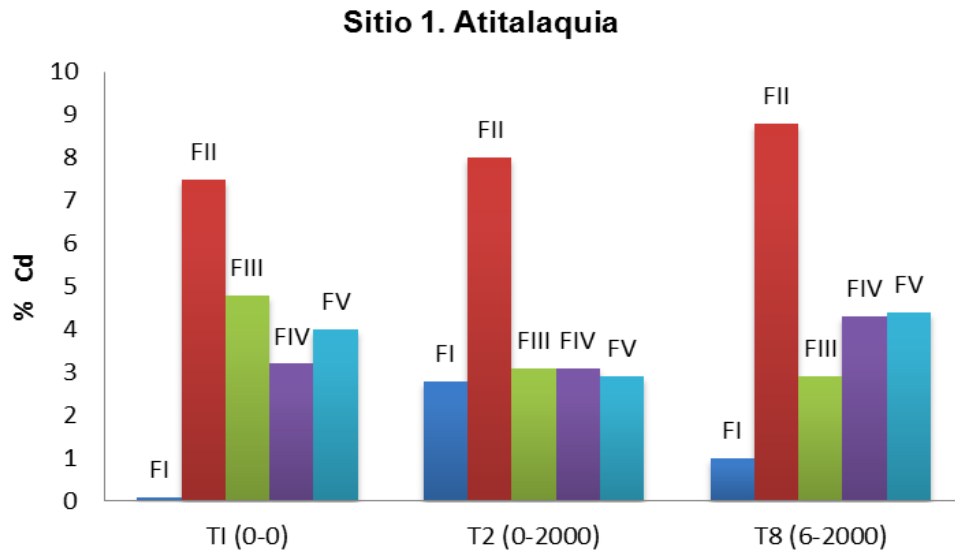


Figura 13. Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 1.

Al adicionar fósforo al suelo, la fracción soluble (FI) mostró un incremento en su contenido de Cd; sin embargo, al añadir azufre y fósforo, la fracción soluble (FI) disminuyó, pero el porcentaje de Cd en las fracciones ligada a los óxidos (FIV) y unida a la materia orgánica (FV) aumentó su concentración.

La secuencia de acumulación del cadmio en el suelo del sitio 4 fue como sigue: FVI > FII > FIV > FV > FIII > FI (Figura 14), con 63.7% del Cd residual (FVI). La segunda fracción importante de este elemento fue la intercambiable (FII) con 13% del Cd total. Con la adición conjunta de azufre y fósforo, la fracción unida a óxidos (FIV) disminuyó su concentración, pasando el Cd a la fracción intercambiable (FII).

Sitio 4. Tlahuelilpan

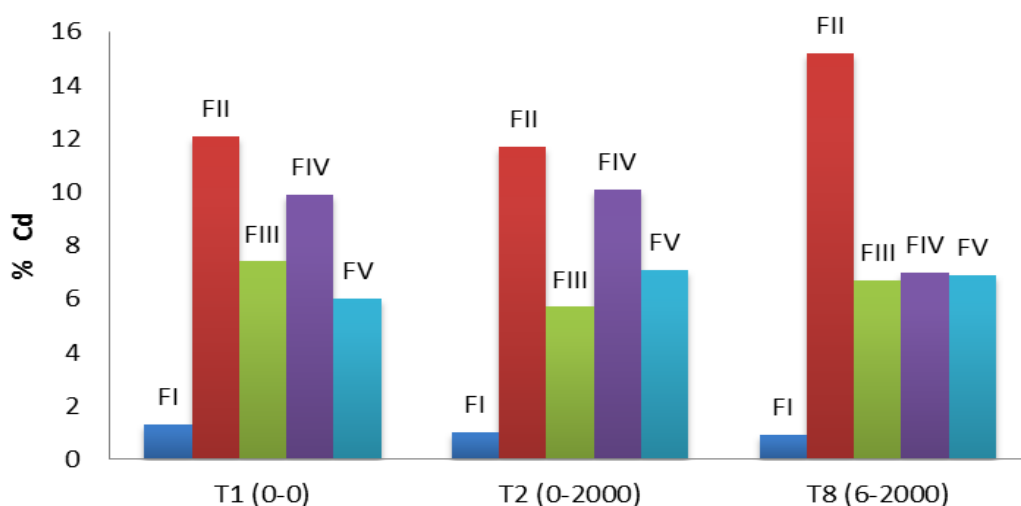


Figura 14. Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 4.

Este resultado no se esperaba, ya que considerando el pH de los suelos y la presencia de carbonatos, se suponía encontrar alta proporción de cadmio unido a carbonatos.

El orden de las diferentes fracciones en el suelo del sitio 13 fue: FVI > FII > FV > FIV > FIII > FI (Cuadro 10 y Figura 15), con un porcentaje de Cd en la fracción residual (FVI) de 76.5% (Fracción no mostrada en la Figura).

Al igual que en los suelos de los sitios 1 y 4, la segunda fracción más abundante de Cd en el suelo del sitio 13 fue la intercambiable (FII) con 11.3% del Cd total en el suelo, tal vez por la disolución de una fracción de carbonatos o bicarbonatos.

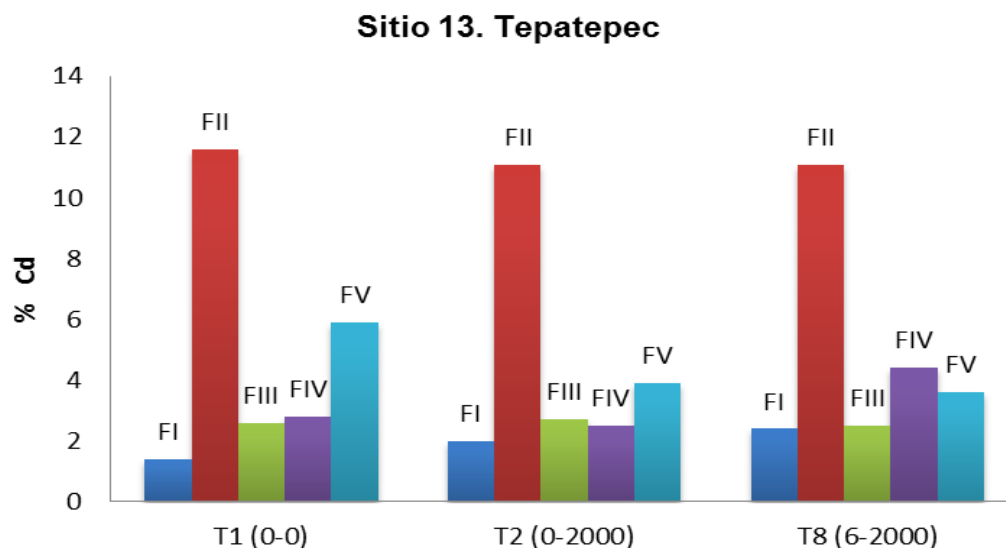


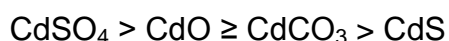
Figura 15. Porcentaje de cadmio en cinco fracciones (FI, FII, FIII, FIV, FV), en el sitio 13.

Esto muestra una fuerte afinidad de Cd por los minerales más estables y su persistencia en el complejo de intercambio. Estos resultados sugieren que, en contraste con el Pb en el suelo, el Cd, particularmente la fracción intercambiable en los tres suelos analizados, probablemente es potencialmente disponible para su absorción por la planta.

Cajuste *et al.* (2000) reportaron resultados semejantes, para la misma área de estudio; a su vez, esto concuerda con lo señalado por Vaca-Paulin *et al.* (1997), quienes con base en una extracción secuencial realizada en sedimentos de canales, observaron que la mayor proporción de Cd está en las fracciones de carbonatos e intercambiable.

En suelos alcalinos se ha reportado que la solubilidad del Cd es baja debido a la precipitación de las fases sólidas. En suelos ácidos, sin embargo, la solubilidad de este elemento es mucho mayor y está controlada por la adsorción sobre minerales arcillosos, óxidos y la materia orgánica del suelo (Voegelin y Kretzschmar, 2003). Sin embargo, a pH elevado la formación de complejos inorgánicos de $\text{Cd}(\text{OH})_2^0$, $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$, $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$, podrían alterar la proporción de cadmio fácilmente extractable.

Bataillard *et al.* (2003) señalaron que los óxidos y carbonatos generalmente se comportan de manera similar, lo cual puede estar relacionado con una rápida conversión de óxidos a carbonatos en los suelos. En el estudio que realizaron, el carbonato de cadmio y el óxido de cadmio tuvieron un comportamiento semejante, excepto en un suelo alcalino donde el óxido de cadmio fue mucho más soluble que el carbonato de cadmio. El orden de disminución de la solubilidad fue como sigue:



Los factores primarios que afectan la movilidad y biodisponibilidad del Cd en los suelos son pH (He y Singh, 1994), textura, materia orgánica, concentración de Cd, especies de Cd, estado del Zn y la salinidad (Adriano, 2001); la variación en estas características en los suelos estudiados, son aparentemente la explicación a las diferencias en la distribución de cadmio en las distintas fracciones.

En general, al incrementar el pH se incrementa la adsorción de cadmio al suelo, por lo tanto, se reduce su disponibilidad; además, el efecto es más pronunciado en suelos arcillosos que en suelos arenosos, debido a su mayor superficie de adsorción (Guo *et al.*, 2009). Al aumentar el pH se incrementa la deprotonación de los grupos hidroxilo y carbonilo, así como la densidad de carga negativa sobre los coloides del suelo, aumentando la adsorción de Cd y reduciendo su extractabilidad (Schulman y Chesworth, 2003).

La adición de azufre y fósforo a los suelos provocó una disminución en el contenido de Cd en la fracción ligada a los carbonatos (FIII), ocasionada posiblemente por la disolución de éstos al acidificarse el suelo. Como consecuencia, para el caso del azufre, se incrementó el contenido de Cd en la fracción intercambiable (FII); mientras que al aplicar fósforo, la fracción soluble (FI) e intercambiable (FII) aumentaron su concentración.

La adsorción de Cd incrementa con el aumento del pH (Bolan *et al.*, 2003). Para explicar estos cambios se sugieren tres razones: primeramente, en minerales de carga variable un aumento en el pH causa un incremento en la carga negativa superficial, incrementando la adsorción del catión (Naidu *et al.*, 1994). En segundo lugar, un aumento en el pH del suelo probablemente resultaría en la formación de especies hidroxilo de cationes metálicos, los cuales son adsorbidos preferentemente sobre el catión metálico.

Las especies de CdOH^+ son formadas a pH arriba de 8, las cuales tienen una mayor afinidad por los sitios de adsorción que el Cd^{2+} solo. En tercer lugar, la precipitación de Cd como $\text{Cd}(\text{OH})_2$ es probable que resulte en una mayor retención a pH arriba de 10 (Naidu *et al.*, 1994). En general, la absorción de Cd por las plantas aumenta con la disminución del pH.

En el análisis de correlación entre las fracciones de Cd con los suelos y con las dosis de S y P aplicadas (Cuadro 10A), se observó que el tipo de suelo determinó significativamente a las fracciones soluble FI ($r= 0.492^{**}$) y residual FVI ($r=0.472^*$). No se observaron diferencias entre el suelo sin azufre y con la aplicación de azufre. En tanto que con la adición de fósforo, la relación fue significativa únicamente para la fracción soluble FI ($r=0.421^*$), lo cual indica que el ortofosfato reaccionó con diferente intensidad dependiendo del tipo de suelo.

6.2.3.3 Níquel

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para las diferentes variables de respuesta muestran diferencias claras (Cuadro 11). Los suelos manifestaron diferencias altamente significativas en todas las fracciones de níquel. En la interacción suelo*azufre, con excepción de la fracción residual de Ni (FVI), el resto de las fracciones mostraron un efecto significativo.

Cuadro 11. Valores de Fc para las diferentes fracciones de níquel, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.

Fuente	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	259.98**	88.89**	623.72**	1582.90**	4293.31**	81.18**	115.69**
S	138.11**	73.03**	0.16NS	83.30**	13.99**	0.07NS	0.00NS
P	44.49**	6.07*	9.05**	58.64**	5.04*	0.01NS	0.00NS
Suelo*S	25.98**	6.05**	22.16**	18.24**	90.03**	0.22NS	0.02NS
Suelo*P	31.61**	12.97**	52.06**	1.30NS	7.33**	0.01NS	0.00NS

** : Altamente significativo ($\alpha=0.001$)

* : Significativo ($\alpha=0.05$)

NS: No significativo

S= Azufre

P= Fósforo

Intercamb.= Intercambiable

MO.= unidos a la Materia orgánica

En contraste, en la interacción Suelo*P no se observaron diferencias significativas en la fracción ligada a los óxidos (FIV) ni en la fracción residual (FVI) (Cuadro 11). Al ser significativas las interacciones de Suelo*S y Suelo*P nos indica que la adición de S y/o P induce reacciones diferentes de acuerdo con el tipo de suelo.

En la prueba de Tukey para el fraccionamiento de Ni (Cuadro 12) se observa que en los tres sitios en estudio, la secuencia de acumulación del elemento es la misma: FVI > FV > FIII > FIV > FII > FI.

En las Figuras 16, 17 y 18 se presentan los porcentajes de níquel en cada fracción, para cada uno de los tres tratamientos analizados con 0 y 6 t de S ha⁻¹, y 0 y 2000 mg kg⁻¹ de P: T1 (0-0), T2 (0-2000) y T8 (6-2000).

Cuadro 12. Prueba de Tukey para las diferentes fracciones de níquel (mg kg⁻¹), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.

Factor	Nivel	Soluble (FI)	Intercamb. (FII)	Carbonatos (FIII)	Óxidos (FIV)	MO (FV)	Residual (FVI)	Total
Suelo	1 Atitalaquia	1.3c*	2.0b	6.0c	2.8c	6.7c	44.2c	63.0b
	4 Tlahuelilpan	2.7b	4.0a	10.8a	10.4a	22.9a	102.3b	153.1a
	13 Tepatepec	4.2a	4.4a	7.2b	5.6b	11.3b	138.8a	171.5a
Azufre	0	2.3b	3.0b	8.0a	6.6a	13.4b	95.7a	129.0a
	6	3.6a	4.4a	8.0a	5.5b	14.0a	93.9a	129.4a
Fósforo	0	1.9b	2.8b	8.2a	7.2a	13.2b	96.0a	129.3a
	2000	3.2a	3.8a	7.9b	5.8b	13.8a	94.7a	129.2a

Intercamb.= Intercambiable

MO= unido a la Materia orgánica

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$).

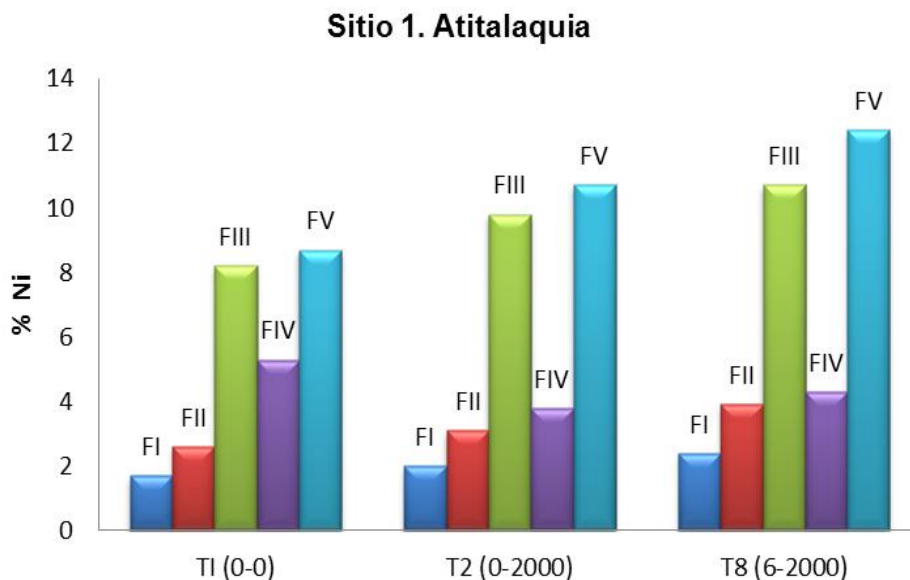


Figura 16. Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV y FV, en el sitio 1.

La fracción residual de Ni (FVI) en los sitios 1, 4 y 13 representó 70.1%, 66.6% y 80.8% del Ni total en el suelo. El níquel ligado a la fracción orgánica (FV) representó el componente más importante después de la fracción residual: con porcentajes de 10.6%, 15.1% y 6.6% para los sitios 1, 4 y 13, respectivamente.

El Ni soluble en agua, aunque con valores bajos, estuvo presente en los tres sitios. Esta fracción, combinada con la forma intercambiable, sugiere que el Ni del suelo podría probablemente impactar de manera adversa el ambiente, debido a su movilidad y biodisponibilidad. Estos resultados se asemejan a los presentados por Cajuste *et al.* (2000).

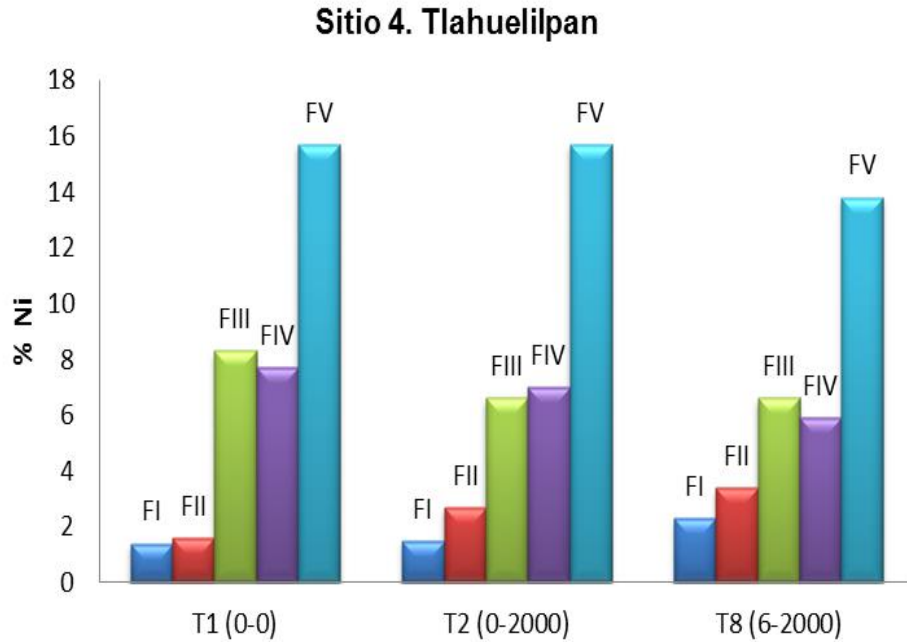


Figura 17. Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV y FV, en el sitio 4.

Otra fracción importante de Ni fue la ligada a los carbonatos (FIII), cuyos porcentajes fueron 9.6%, 7.2% y 4.2% en los sitios 1, 4 y 13. En el caso del níquel la interacción con moléculas orgánicas y su precipitación sobre sulfuros u otras fracciones del suelo ha sido poco estudiada, por lo que falta información para dar una explicación satisfactoria a los cambios observados.

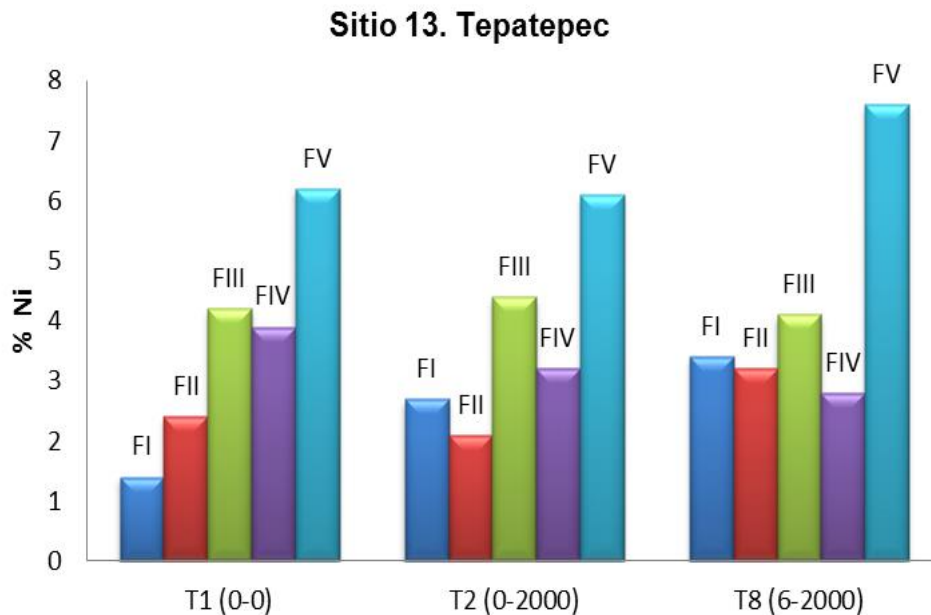


Figura 18. Porcentaje de níquel en las fracciones FI, FII, FIII, FIV y FV, en el sitio 13.

Dependiendo de su naturaleza, la materia orgánica puede inmovilizar metales (Naidu y Harter, 1998; Guo y Marschner, 1995), sorbiendo al Ni y dándole menor disponibilidad para los organismos (Groenenberg *et al.*, 2010). Esto se debe a que la materia orgánica puede aumentar la capacidad de sorción de los metales por los suelos y el pH alcalino favorece la adsorción (Adriano, 2001).

La capacidad de quelación del Ni por la materia orgánica podría acomplejar al menos 220 μg de Ni g^{-1} (Naidu y Harter, 1998). Los metales pueden ser movilizados de manera conjunta con la materia orgánica coloidal humificada como complejos solubles en la solución del suelo, principalmente por componentes de ácidos fúlvicos (Naidu y Harter, 1998). También, durante la descomposición de la materia orgánica, un número de ácidos orgánicos son producidos por la actividad microbiana (Adriano, 2001). Estos ácidos pueden actuar como agentes quelatantes y formar complejos con Ni.

Los ácidos orgánicos más efectivos para el acomplejamiento del Ni son los ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos. Así, el movimiento de los metales a horizontes más bajos o estratos más profundos se facilita por los compuestos orgánicos que tienen una habilidad para formar complejos (Barancikova y Makovnikova, 2003).

Por su parte, Covelo *et al.* (2004), reportaron que los metales pesados como Ni, Cd, Pb, Cr, Cu y Zn están más adsorbidos y retenidos por los óxidos de Mn, Fe y Al, además de la materia orgánica. Señalaron que en general, las propiedades y los componentes del suelo tienen más influencia sobre la adsorción y retención de los metales que las propiedades de los iones metálicos.

Lo anterior puede explicarse si se considera que la concentración y especiación del Ni en la solución de los suelos contaminados depende fuertemente del pH, predominando los complejos orgánicos a pH alcalino (Uren, 1992; Alloway, 1995 y Kiikkilä *et al.*, 2001)

Al aplicar azufre a los suelos, se observó una disminución en la fracción de Ni ligada a los óxidos de Fe-Mn (FIV) y un incremento en las fracciones soluble (FI), intercambiable (FII) y ligada a la materia orgánica (FV). Cuando se adicionó fósforo a los suelos en estudio, se presentó una menor concentración en las fracciones ligada a los carbonatos (FIII) y ligada a los óxidos (FIV), y un aumento en la soluble (FI), intercambiable (FII) y ligada a la materia orgánica (FV) (Cuadro 12).

La acidificación afecta la transformación y los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes y metales pesados mediante su efecto sobre las características físicas, químicas y biológicas de los suelos, y la aplicación de azufre y fósforo a los suelos de este experimento tuvieron reacción ácida. Para explicar este efecto, Adriano (2001) señaló al pH como la variable dominante de todos los factores manejados, debido a que puede afectar la superficie de carga y la subsecuente adsorción de solutos por los componentes de carga variable del suelo, tales como las arcillas silicatadas, la materia orgánica y los óxidos de Fe y Al.

Bolan *et al.* (2003) reportaron, además de los factores anteriores, el efecto de la acidificación sobre la sorción de cationes y aniones metálicos en los suelos, la especiación del metal y la eventual biodisponibilidad de los metales traza.

Se obtuvieron coeficientes de correlación significativos entre los suelos de los tres sitios analizados y las fracciones soluble FI ($r=0.764^{**}$), intercambiable FII ($r=0.606^{**}$) y residual FVI ($r=0.868^{**}$) (Cuadro 11A). La adición de azufre y fósforo mostró valores significativos con las fracciones, soluble (FI) e intercambiable (FII).

6.3 Experimentación de invernadero

Con base en los resultados obtenidos en el laboratorio, se seleccionaron los tratamientos 0 y 2 t ha⁻¹ de azufre, y 0, 1000 y 2000 mg kg⁻¹ de P, con tres repeticiones, para realizar el experimento en invernadero y evaluar la biodisponibilidad de los metales, usando como plantas indicadoras maíz blanco y alfalfa valenciana (Figura 19).



Figura 19. Establecimiento en el invernadero, de los cultivos de maíz blanco y alfalfa valenciana.

6.3.1 Incubación de las muestras de suelo con azufre

En una primera etapa, se aplicó el tratamiento con azufre a las macetas con los tres suelos y se incubaron durante cuatro semanas. Una vez cada dos semanas se determinó el pH y la CE (Cuadro 12A).

La Figura 20 muestra el comportamiento de estas dos características. De manera general, el pH disminuyó en una o menos unidades, con la aplicación de azufre. La conductividad eléctrica mostró el mismo comportamiento en los sitios 4 y 13, mientras que el sitio 1 incrementó su contenido de sales en la cuarta semana de incubación. El comportamiento de estas variables coincide con lo reportado en el trabajo de laboratorio.

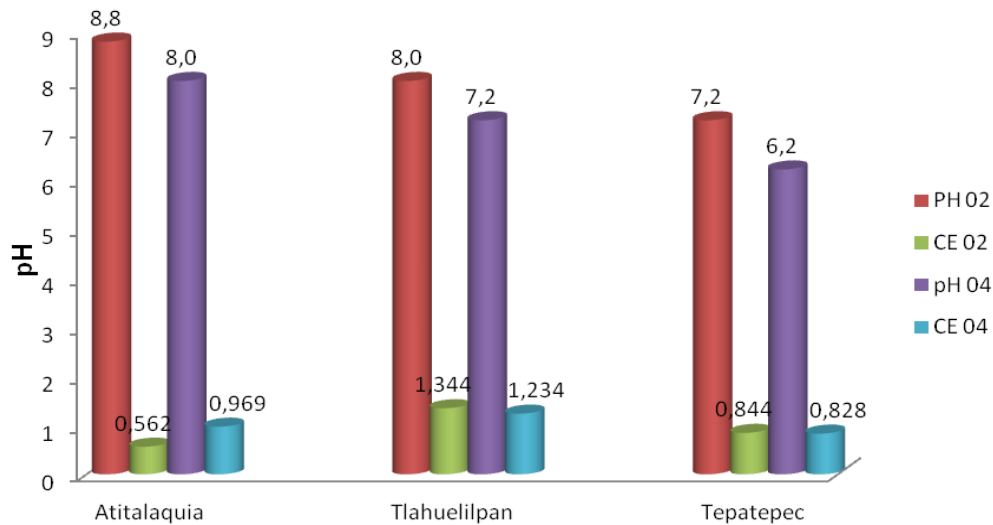


Figura 20. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) en tres suelos incubados con azufre.

La prueba de Tukey (Cuadro 13) para ambas características presentó efectos altamente significativos entre suelos por la adición del tratamiento con azufre, lo cual se puede atribuir a las diferentes características físicas y químicas que tiene cada uno de los sitios en estudio.

Cuadro 13. Promedio de las variables y prueba de Tukey para la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE), en tres suelos incubados con azufre.

Factor	Nivel	pH2	pH4	CE2	CE4
Suelo	1 Atitalaquia	8.83a*	8.03a	0.562c	0.969ab
	4 Tlahuelilpan	8.00b	7.17b	1.344a	1.234a
	13 Tepatepec	7.20c	6.17c	0.844b	0.828b

pH2 y pH4= reacción del suelo a la segunda y cuarta semana de incubación

CE2 y CE4= conductividad eléctrica a la segunda y cuarta semana de incubación

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

6.3.2 Incubación de los suelos con ortofosfato

Posterior a la incubación con azufre, se aplicaron los tratamientos de fósforo (0, 1000 y 2000 mg kg⁻¹) y se dejaron incubar durante dos semanas. También se determinó el pH y la CE en cada tratamiento al finalizar las dos semanas de incubación (Cuadro 13A).

Las Figuras 21, 22 y 23 muestran el comportamiento de estas dos características. En general, el pH de los tres sitios disminuyó sus valores con la aplicación de fósforo, y los redujo aun más cuando el fósforo se adicionó a los suelos que contenían azufre.

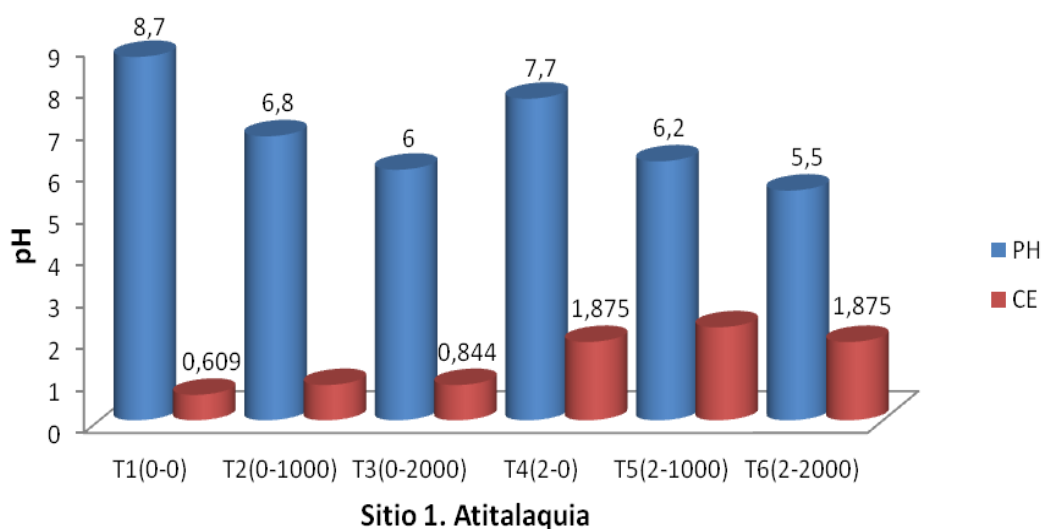


Figura 21. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 1, incubado con fósforo.

Contrariamente, los suelos incrementaron su contenido de sales solubles (CE), sobre todo cuando se combinó la aplicación de azufre y fósforo. Estos valores coinciden con los obtenidos en el trabajo de laboratorio.

De acuerdo con el análisis de regresión efectuado, se observa que el pH disminuyó de manera significativa en los tres sitios, con una ecuación de tendencia [pH= 7.84 - 0.438X y R²= 0.477], en función de los tratamientos de ortofosfato aplicados.

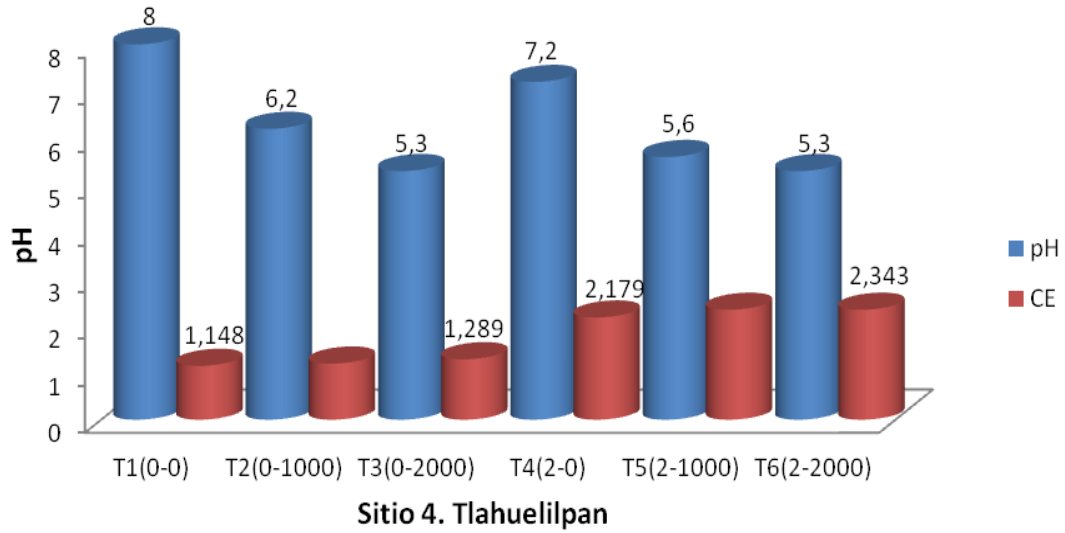


Figura 22. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 4, incubado con fósforo.

En el sitio 13 (Tepatepec) se observó el mayor incremento de la CE con una ecuación de tendencia $CE = -0.133 + (0.362)P + 0.073$ y $R^2 = 0.859$; en contraste, el sitio 4 (Tlahuelilpan) fue donde menos cambio de CE se detectó [$CE = 0.719 + (0.294)P + 0.059$ y $R^2 = 0.857$].

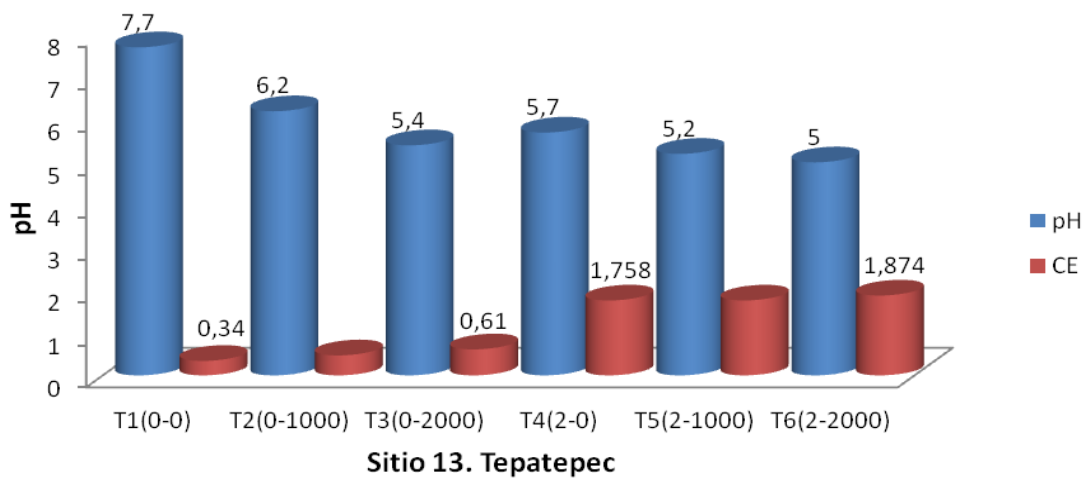


Figura 23. Reacción del suelo (pH) y conductividad eléctrica (CE) del sitio 13, incubado con fósforo.

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para la reacción del suelo (pH), presentan diferencias altamente significativas (Cuadro 14) con los factores en estudio; la conductividad eléctrica (CE) únicamente mostró efectos altamente significativos entre suelos.

Cuadro 14. Valores de Fc para pH y CE después de incubarse con fósforo durante dos semanas, obtenidos en el análisis de varianza de las variables de respuesta.

Factor	pH	CE
Suelo	185.70**	66.97**
S	350.00**	765.70**
P	894.87**	5.55*
Suelo*S	25.30**	2.69NS
Suelo*P	17.94**	1.60NS
S*P	40.52**	1.17NS
Suelo*S*P	7.28**	0.65NS

S= Azufre P= Fósforo CE= Conductividad eléctrica
 **: Altamente significativo ($\alpha=0.001$) *:Significativo ($\alpha=0.05$) NS: No significativo

De acuerdo con la prueba de Tukey, los tratamientos de azufre y fósforo aplicados a los suelos influyeron significativamente en los valores de pH y CE, observándose reducción del pH y una mayor concentración de sales solubles (Cuadro 15).

Esto confirma la diferente capacidad amortiguadora que tienen los suelos para modificar algunas de sus propiedades químicas (Sposito, 2008).

Cuadro 15. Prueba de Tukey para la reacción del suelo (pH) y la conductividad eléctrica (CE), en tres suelos incubados con azufre y fósforo.

Factor	Nivel	pH	CE
Suelo	1 Atitalaquia	6.82a*	1.750a
	4 Tlahuelilpan	6.24b	1.379b
	13 Tepatepec	5.85c	1.135c
Azufre	0	6.69a	0.816b
	2	5.92b	2.026a
Fósforo	0	7.50a	1.318b
	1000	6.01b	1.473a
	2000	5.41c	1.472a

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

6.4 Experimento con maíz

La cosecha de maíz se realizó 45 días posteriores a la siembra (Figura 24). Se determinó el rendimiento con base en peso seco (Cuadro 14A), para después cuantificar en el tejido vegetal la concentración de los metales Pb, Cd y Ni. También se analizó el P extractable en las muestras de suelo, después de la cosecha (Cuadro 14A).



Figura 24. Cultivo de maíz blanco al momento de la cosecha.

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para las variables rendimiento total, concentración de Pb, Cd y Ni en la planta de maíz y el contenido de P extractable en el suelo, presentaron diferencias estadísticas significativas ($\alpha \leq 0.05$) y altamente significativas ($\alpha \leq 0.01$) (Cuadro 16).

El rendimiento de maíz no se asoció con ninguna de las interacciones, pero si varió con el tipo de suelo, al igual que la concentración de los metales Pb y Cd. El Pb y Ni mostraron efectos por las diferentes interacciones, mientras que el P extractable resultó altamente significativo con las interacciones Suelo*S, Suelo*P y Suelo*S*P (Cuadro 16), lo que implica que la cantidad de fósforo aplicada sobrepasó la capacidad de adsorción de los suelos.

Cuadro 16. Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para las variables rendimiento de materia seca, P extractable y contenido de Pb, Cd y Ni en el tejido vegetal de maíz.

Fuente	Rendimiento	Pb	Cd	Ni	P extract. ¹
Suelo	22.43**	6.64**	6.82**	2.05NS	209.88**
S ²	0.40NS	0.06NS	0.34NS	3.89NS	5.60*
P ³	11.11**	0.26NS	1.80NS	1.44NS	524.08**
Suelo*S	0.30NS	3.50*	4.17*	14.23**	16.03**
Suelo*P	0.54NS	3.50*	1.22NS	6.99**	57.06**
S*P	0.06NS	4.51*	1.07NS	19.15**	1.46NS
Suelo*S*P	1.81NS	6.23**	1.11NS	12.30**	5.08**

¹P extract.= Fósforo extractable

²S= Azufre

³P= Fósforo

*significativo ($\alpha \leq 0.05$); **altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); NS= No Significativo

La prueba de Tukey mostró diferencias altamente significativas entre los suelos, obteniendo el mayor rendimiento de materia seca en el suelo del sitio 13 (Tepatepec), mientras que las mayores concentraciones de Pb y Cd se ubicaron en los suelos de los sitios 1 y 13 (Cuadro 17), es decir, hubo una diferenciación en los efectos sobre las variables medidas. No hubo diferencias significativas en el contenido de Ni en los tres suelos; mientras que la concentración de fósforo extractable fue mayor en el sitio 1 y menor en el sitio 13.

La adición de azufre a los suelos no afectó el rendimiento, pero restringió la concentración de P extractable, probablemente porque la cantidad de azufre aplicado a los suelos no fue suficiente para solubilizar compuestos fosfatados, ya que el pH de los suelos no disminuyó de manera significativa (sitio 13, pH 6.2; sitio 4, pH 7.2 y sitio 1, pH 8.0) después de las cuatro semanas de incubación (Cuadro 12A). Sin embargo, con la aplicación de fósforo a los suelos aumentó el rendimiento de materia seca y de fósforo extractable (Cuadro 17). En este caso se incrementó el contenido de P extractable, porque con los tratamientos combinados de azufre-fósforo se obtuvieron valores de pH ácidos (sitio 1 pH 5.5; sitio 4 pH 5.3 y sitio 13 pH 5.0), manteniendo los compuestos fosfatados disponibles para las plantas.

El análisis de correlación (Cuadro 15A) entre las diferentes variables únicamente presentó una asociación altamente significativa entre el fósforo aplicado a los diferentes suelos, con el rendimiento total ($r=0.436^{**}$) y el P extractable de los suelos ($r=0.713^{**}$).

Cuadro 17. Prueba de Tukey para las variables rendimiento de materia seca (g), concentración de Pb, Cd y Ni en tejido vegetal de maíz (mg kg^{-1}) y contenido de fósforo extractable en los suelos (mg kg^{-1}).

Fuente	Nivel	Rendimiento	Pb	Cd	Ni	P-extractable
Suelo	1 Atitalaquia	3.128b*	24.9a	4.9a	17.5a	883.7a
	4 Tlahuelilpan	3.559b	21.4b	3.8b	16.3a	675.4b
	13 Tepatepec	4.466a	24.2a	4.8a	16.4a	342.7c
Azufre	0	3.665a	23.6a	4.0a	17.2a	659.7a
	2	3.770a	23.4a	4.6a	16.2a	608.2b
Fósforo	0	3.199b	23.1a	4.5a	17.3a	142.1c
	1000	3.807a	23.9a	4.2a	16.4a	812.9b
	2000	4.147a	23.6a	4.8a	16.4a	946.8a

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

La explicación de cómo los metales pesados son incorporados a los vegetales es compleja e incompleta, ya que están involucrados varios factores (Streit y Stumm, 1993). En la mayoría de los casos se ha buscado la relación de una función lineal entre la concentración del metal en las diversas partes de la planta y el contenido de una forma móvil (soluble) en el suelo, para explicar a manera de relación causa-efecto. Esta relación está controlada y es afectada por distintos factores del suelo y de la planta (Kabata-Pendias *et al.*, 1993).

La movilidad de los iones en el suelo, incluyendo la de los EPT, depende de factores tales como: saturación de agua, velocidad de desplazamiento del agua en el suelo, potencial redox, pH, interacción con otros constituyentes de la solución y propiedades del suelo, como la capacidad de intercambio catiónico y el coeficiente de distribución de los elementos, entre otras (Basta *et al.*, 2001). Todas estas variables pueden cambiar en distancias cortas y, por lo tanto, la concentración de elementos está sujeta a variabilidad espacial y temporal (Streit y Stumm, 1993).

6.4.1 Contenido de plomo en maíz

Las plantas que crecieron en distintos suelos tuvieron diferencias significativas en el contenido de plomo en el tejido vegetal (21.4 a 24.9 mg kg⁻¹, para los sitios 4 y 1, respectivamente) (Cuadro 17), posiblemente por las características físicas y químicas de cada sitio. Los contenidos de Pb obtenidos con la adición de azufre y fósforo a los suelos fueron de 23.4 y 23.6 mg kg⁻¹, respectivamente, que corresponden a los tratamientos más altos, y no mostraron diferencias significativas respecto al tratamiento control, posiblemente porque este elemento es pobremente translocado a otras partes de la planta (Adriano, 2001).

Valores similares de Pb reportaron Carrillo *et al.* (1993) en un estudio realizado en estos suelos del valle del Mezquital, Hidalgo. Asimismo, Carrillo y Cajuste (1995) determinaron el comportamiento de metales pesados acumulados en suelos regados con aguas residuales en diferentes intervalos de tiempo, reportando intervalos de concentraciones de Pb en tejido de maíz de 0.5 a 25 mg kg⁻¹.

El intervalo reportado como fitotóxico por Davis *et al.* (1978) es de 30 a 300 mg kg⁻¹, por lo que en este caso, la concentración de plomo no está dentro de los valores que se consideran fitotóxicos para la planta.

El plomo puede ser adsorbido por las arcillas del suelo, reaccionar con los fosfatos, sulfatos, carbonatos y la materia orgánica, por lo que su movilidad es baja y su vida media es larga (Streit y Stumm, 1993). Estas reacciones explican en gran parte por qué el plomo se acumula en el suelo y su baja movilidad.

6.4.2 Contenido de cadmio en maíz

La concentración de cadmio en maíz resultó muy similar entre el tratamiento control y cuando se aplicó azufre y fósforo a los suelos (4.0 a 4.8 mg kg⁻¹) (Cuadro 17).

Sin embargo, las plantas que crecieron en distintos suelos tuvieron diferencias significativas (3.8 a 4.9 mg kg⁻¹, para los sitios 4 y 1, respectivamente), probablemente por las características físicas y químicas diferentes de cada sitio (pH, contenido de materia orgánica, años de riego con aguas residuales, etc.) las cuales influyen en la disponibilidad de Cd según diferentes investigadores (He and Singh, 1994; Pinto *et al.*, 2004; Yanshan *et al.*, 2004).

Los valores normales de concentración de Cd en plantas desarrolladas en suelos no contaminados están entre 0.1 a 1 mg Cd kg⁻¹ de peso seco, mientras que los valores fitotóxicos están entre 5 a 700 mg Cd kg⁻¹ de peso seco, dependiendo de la planta y condiciones experimentales (Murillo *et al.*, 1999). Los contenidos de Cd encontrados en este trabajo están por debajo de los niveles fitotóxicos señalados anteriormente, pero no fueron abatidos por la adición de azufre y fósforo.

El Cd no es un elemento esencial y es tóxico para diversas especies de plantas; puede estar presente de forma natural en el suelo o acumularse por las continuas actividades agrícolas. Este elemento es tomado rápidamente por las raíces y en la mayoría de las situaciones puede inhibir el crecimiento (Fellipe *et al.*, 2002).

La presencia de concentraciones fitotóxicas de Cd podría afectar (i) la fotosíntesis y los procesos relacionados con esta función, (ii) las actividades enzimáticas, (iii) la asimilación de nutrientes, y (iv) las relaciones planta-agua con un gran impacto en procesos metabólicos (Pinto *et al.*, 2004).

Investigaciones con diferentes especies de plantas han mostrado que el Cd es hábil para inhibir un gran número de enzimas en la planta, como las del ciclo de Calvin y la biosíntesis de clorofila, el metabolismo del nitrógeno, glicólisis y asimilación de sulfatos (Boussama *et al.*, 1999a; Boussama *et al.*, 1999b; Lee y Leustek, 1999), por mencionar algunas.

La reducción de azúcares totales, azúcares reducidos y contenido de azúcares no reducibles en los tallos de maíz expuestos a Cd fueron reportados por Prince *et al.* (2002), lo que muestra el impacto de este elemento en los procesos bioquímicos de las plantas.

La alta capacidad para la acumulación de Cd en las partes comestibles de diferentes cultivos vegetales, junto con la ausencia de síntomas visuales, implica un peligro potencial para los humanos (Ni *et al.*, 2002).

Diversos trabajos se han realizado con este metal, en cultivos como la cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Ribeka) para observar la tolerancia en la acumulación de biomasa en el nivel de la planta completa, incluyendo la raíz (Vassilev *et al.*, 2004); en plantas de arroz (*Oryza sativa* L. cv. Kantou) de cinco semanas de edad tratadas con una solución nutritiva conteniendo Cd, para obtener evidencia directa de la translocación de este elemento vía el floema (Tanaka *et al.*, 2003); la variación genotípica en la concentración de cadmio en semillas de cultivos de cebada, en soya y líneas de maíz (Ferbo y Guoping, 2002); la influencia de la materia orgánica (MO) en la absorción del Cd por sorgo, para obtener un mejor conocimiento en el rendimiento y entendimiento de los mecanismos de detoxificación de los suelos (Pinto *et al.*, 2004).

6.4.3 Contenido de níquel en maíz

No se observaron diferencias significativas entre la concentración de este metal en los suelos de los sitios analizados, ni cuando se les aplicó azufre y fósforo (Cuadro 17), respecto al tratamiento control.

Los valores de Ni obtenidos sobrepasaron los intervalos considerados como normales para los cultivos, los cuales fluctúan de 0.05 a 5.0 mg kg⁻¹ en la materia seca (Adriano, 2001). Generalmente, el nivel de Ni en la mayoría de las especies de plantas, que puede producir fitotoxicidad, varía de 10 a 100 mg kg⁻¹. Kabata-Pendias y Pendias (1993), reportan valores promedio en plantas normales de cereales de 0.50 mg kg⁻¹.

Por su parte, Macnicol y Beckett (1985) señalan que para varios cultivos agrícolas y hortícolas, las concentraciones normales varían de 15 a 25 mg kg⁻¹ con base a materia seca y la concentración fitotóxica es mayor de 50 mg kg⁻¹. La concentración normal del suelo, extraída con ácido acético, es de 1 a 5 mg kg⁻¹ y la tóxica de 15 a 25 mg kg⁻¹.

Los síntomas de fitotoxicidad producidos por Ni son similares a aquellos producidos por otros EPT y consiste de clorosis causada por deficiencia de Fe inducida por Ni, y efectos específicos del propio metal (Adriano, 2001). Un típico síntoma de toxicidad producido por Ni es la clorosis o amarillamiento de hojas seguido por necrosis (Uren, 1992). Otros síntomas incluyen crecimiento atrofiado de raíces y tallos, partes de la planta deformadas, manchado inusual, y en casos severos, muerte de toda la planta. En sorgo, los síntomas por exceso de Ni son similares a aquellos que se presentan con exceso de cobalto, el cual se asemeja a la deficiencia de hierro (Fe), excepto que las venas amarillas de los síntomas de Co-inducido no se extienden tan fácilmente a la punta de la hoja como en la deficiencia de Fe (Uren, 1992). Las raíces estaban gordas, cortas, gruesas, teñidas de gris y quebradizas.

En arroz la clorosis intervenal aparece en hojas nuevas, y el número de hojas y retoños disminuye (Adriano, 2001). El crecimiento de la raíz es abatido severamente. En papa y tomate, los síntomas de toxicidad de Ni se parecen a la deficiencia de manganeso. Un exceso de Ni puede causar trastornos mitóticos en la punta de la raíz de algunas plantas.

Adriano (2001) hizo una comparación de la fitotoxicidad y resume que: en cebada, la efectividad de los metales en la inducción de síntomas visibles de toxicidad fue en el

siguiente orden: Ni > Co > Cu > Mn > Zn. En arroz, el orden fue Cu > Ni > Co > Zn > Mn y Hg > Cd > Zn; en avena fue Ni > Cu > Co > Cr > Zn > Mo > Mn. En maíz sin embargo, el Cd resultó más tóxico que el Ni. En maíz y girasol, el efecto tóxico de metales sobre la fotosíntesis y el crecimiento fue en el orden TI > Cd > Ni > Pb.

La solubilidad en suelos y la biodisponibilidad de la mayoría de los EPT en las plantas están inversamente relacionados con el pH. Los efectos del pH sobre la química del Ni en suelos han sido demostrados en la sorción del suelo, en la aplicación de lodos residuales, en la recuperación de suelos de serpentina y en estudios de absorción por las plantas (Adriano, 2001).

También el pH influye en la precipitación del Ni con aniones como los fosfatos. Pratt *et al.* (1964), reportaron que la formación de complejos Ni-P podría ocurrir a $\text{pH} \geq 7.0$, reduciendo de este modo la toxicidad de Ni en los suelos. Sin embargo, en el presente estudio no se observó este efecto, probablemente porque los suelos incubados con azufre y fósforo disminuyeron su pH, en los tratamientos con mayor dosis, hasta valores de 5.5, 5.3 y 5.0 en los sitios 1, 4 y 13, respectivamente (Cuadro 13A).

Otro factor importante en la química del Ni es la materia orgánica, la cual, dependiendo de su naturaleza, puede inmovilizar o movilizar metales (Naidu y Harter, 1998). La materia orgánica sólida une al Ni dándole menor disponibilidad a las plantas. Esto se debe a que la materia orgánica puede agregarse a la capacidad de sorción de los suelos por metales.

Por otro lado, los metales pueden ser complejados por materia orgánica disuelta, dejándolos, por consiguiente, más móviles. La capacidad de quelación del Ni por la materia orgánica es aproximadamente 2.2% por peso. Por ejemplo, un suelo con 1% de materia orgánica, podría complejar al menos $220 \mu\text{g Ni g}^{-1}$ (Adriano, 2001). Los metales pueden ser movilizados en asociación con la materia orgánica coloidal humificada y como complejos solubles en la solución del suelo (Sposito, 2008).

Durante la descomposición de la materia orgánica, se producen ácidos orgánicos por la actividad microbiana. Estos ácidos pueden actuar como agentes quelatantes y formar complejos con Ni. Los ácidos orgánicos más efectivos en la complejación de Ni son los ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos. Así, el movimiento de metales a horizontes más bajos o estratos profundos se facilita por los compuestos orgánicos que tienen habilidad para formar complejos (Adriano, 2001).

Resumiendo, la adición de fósforo y azufre al suelo no parecen ser justificados, tomando en cuenta que no se abatió la cantidad de metales disponibles. Sin embargo, no se evaluó el efecto del tiempo después de la adición de enmiendas sobre la disponibilidad de los elementos. Asimismo, es necesario rediseñar los experimentos para evaluar las consecuencias de la ruptura de la capacidad de amortiguamiento del suelo, por adición de compuestos con reacción ácida, y del efecto de la resiliencia del suelo sobre la disponibilidad de los metales, en función del tiempo.

6.5 Experimento de alfalfa

La cosecha de esta leguminosa se efectuó en cuatro cortes, el primero de ellos se realizó 50 días posteriores a la siembra y los tres cortes siguientes se hicieron cada 35 días, después del último inmediato (Figura 25). El rendimiento de tejido vegetal en cada corte se determinó con base en el peso seco (g).

También se analizó el P extractable en el suelo después de la cosecha (Cuadro 16A). En el tejido vegetal cosechado se cuantificó la concentración de los metales Pb, Cd y Ni (Cuadros 17A, 18A y 19A).



Figura 25. Cultivo de alfalfa valenciana al momento de la cosecha del último corte.

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para el rendimiento de alfalfa en cada corte, así como para el rendimiento total, presentaron diferencias estadísticas significativas ($\alpha \leq 0.05$) y altamente significativas ($\alpha \leq 0.01$).

Se observó efecto de la interacción suelo*azufre sobre el rendimiento de alfalfa en el primer corte y sobre el rendimiento total (Cuadro 18). Mientras que la interacción suelo*fósforo afectó de manera significativa a todas las variables.

Cuadro 18. Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para los diferentes cortes y rendimiento total de materia seca de alfalfa.

Corte/ Fuente	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)	Rendimiento total
Suelo	26.41**	84.70**	59.14**	79.03**	107.35**
S ²	2.53NS	3.13NS	0.06NS	1.42NS	2.94NS
P ³	4.53*	2.39NS	6.09**	0.41NS	4.81*
Suelo*S	5.82**	2.66NS	0.48	1.01NS	3.58*
Suelo*P	5.10**	7.29**	7.43**	5.84**	10.93**
S*P	1.37NS	1.38NS	0.03NS	0.13NS	0.02NS
Suelo*S*P	2.61NS	0.22NS	1.12NS	1.59NS	1.16NS

¹ dds= días después de la siembra ²S= Azufre ³P= Fósforo
 *significativo ($\alpha \leq 0.05$) **altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$) NS= No Significativo

El rendimiento de materia seca obtenido en cada corte mostró diferencias altamente significativas, dependiendo el tipo de suelo; resultando el suelo del sitio 4 (Tlahuelilpan) con los mayores rendimientos por corte y de manera global (Cuadro 19). Los máximos rendimientos se obtuvieron a los 85 y 120 días después de la siembra (cortes 2 y 3, respectivamente).

La adición de azufre no tuvo ningún efecto sobre las variables, posiblemente porque los valores de pH de los suelos incubados con este elemento, seis semanas después, fueron de 7.7, 7.2 y 5.7 (sitios 1, 4 y 13, respectivamente) (Cuadro 13A) y la alfalfa requiere como pH óptimo valores de 6.5. Sin embargo, con la aplicación de fósforo, disminuyó el rendimiento en los cortes 1, 3 y total (Cuadro 19).

Con los máximos tratamientos de azufre y fósforo, el pH de los suelos presentó valores de 5.5, 5.3 y 5.0, para los sitios 1, 4 y 13, respectivamente (Cuadro 13A), no cumpliendo con los requerimientos de pH para el cultivo de alfalfa.

Cuadro 19. Prueba de Tukey para las variables rendimiento de materia seca (g) en diferentes cortes y rendimiento total de alfalfa (g).

Fuente	Corte/ Nivel	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)	Rendimiento total
Suelo	1 Atitalaquia	0.806a*	1.505b	1.274b	0.760c	4.345b
	4 Tlahuelilpan	0.962a	2.396a	1.891a	1.357a	6.606a
	13 Tepatepec	0.490b	1.269c	1.196b	0.888b	3.843c
Azufre	0	0.710a	1.657a	1.446a	0.977a	4.791a
	2	0.796a	1.789a	1.461a	1.026a	5.072a
Fósforo	0	0.867a	1.807a	1.548a	0.996a	5.218a
	1000	0.702b	1.750a	1.497a	1.027a	4.976ab
	2000	0.688b	1.613a	1.316b	0.998a	4.600b

¹dds= días después de la siembra

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

Al hacer el análisis de correlación (Cuadro 20A) entre las variables analizadas, se observó un efecto negativo del Pb sobre el rendimiento de materia seca en los cortes 1 ($r=-0.437^{**}$) y 2 ($r=-0.295^*$), y en el rendimiento total ($r=-0.313^*$).

La absorción de metales por las plantas terrestres todavía es poco comprendida. La entrada de plomo a los vegetales es probablemente pasiva, sin gasto de energía, y por difusión; su movilización desde las raíces hacia otros órganos del vegetal es baja; el depósito atmosférico y la entrada vía foliar de este elemento pueden contribuir significativamente a explicar las concentraciones encontradas en el follaje (Flores *et al.*, 1999), pero en este experimento se considera baja la aportación de plomo por depósitos atmosféricos, ya que el experimento se hizo en invernadero, por lo que el ingreso del Pb a la planta fue vía radicular.

6.5.1 Contenido de plomo en alfalfa

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para la concentración de Pb en los diferentes cortes de alfalfa (Cuadro 17A) y el contenido de fósforo extractable en el suelo (Cuadro 16A), presentaron diferencias estadísticas entre suelos (Cuadro 20).

De manera general, las interacciones Suelo*S, Suelo*P, S*P y Suelo*S*P influyeron en el contenido de plomo en el tejido vegetal de la alfalfa, sobretodo en el corte 4 (Cuadro 20).

Cuadro 20. Valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de Pb en los diferentes cortes de alfalfa y P extractable del suelo.

Corte/ Fuente	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)	P extractable
Suelo	36.82**	3.32*	20.31**	27.63**	131.08**
S ²	1.97NS	4.90*	0.60NS	10.16**	0.62NS
P ³	33.11**	0.42NS	3.28*	8.03**	561.20**
Suelo*S	14.87**	7.51**	1.97NS	10.08**	2.09NS
Suelo*P	16.11**	1.40NS	2.69*	4.18**	39.40**
S*P	0.96NS	20.30**	1.12NS	19.53**	1.29NS
Suelo*S*P	15.46**	13.24**	1.93NS	12.26**	1.92NS

¹dds= días después de la siembra ²S = Azufre ³P = Fósforo

*significativo ($\alpha \leq 0.05$); **altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); NS= No Significativo

La naturaleza de los suelos afectó la presencia de Pb en el tejido de alfalfa en los cuatro cortes, así como el fósforo extractable de los suelos (Cuadro 21), lo que implica que dependiendo del suelo se presentan distintos procesos con el plomo.

Cuadro 21. Prueba de Tukey para la concentración de plomo (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes y la concentración de fósforo extractable en el suelo.

Fuente	Corte/ Nivel	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)	P extractable
Suelo	1 Atitalaquia	30.6a*	25.2a	18.7b	14.7b	884a
	4Tlahuelilpan	20.1b	25.7a	18.6b	14.0b	702b
	13 Tepatepec	19.4b	22.3a	24.6a	19.6a	427c
Azufre	0	24.2a	23.1b	20.3a	17.2a	662a
	2	22.5a	25.7a	21.0a	15.0b	680a
Fósforo	0	29.4a	23.6a	19.0a	18.0a	134c
	1000	17.4c	24.9a	21.6a	15.2b	837b
	2000	23.2b	24.6a	21.2a	15.0b	1042a

¹dds= días después de la siembra

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

Las concentraciones promedio de Pb más altas en el tejido vegetal se observaron en los sitios 1 (Atitalaquia) y 4 (Tlahuelilpan), en los cortes 1 y 2, mientras que en el sitio 13 (Tepatepec) las cantidades más altas se presentaron en los cortes 2 y 3. La diferente capacidad amortiguadora de cada suelo pudo influir en el tiempo de solubilización de plomo.

Con la adición de azufre a los suelos, el Pb presentó una tendencia a disminuir su contenido a medida que el cultivo crecía. Por otro lado, la aplicación de los tratamientos de fósforo al suelo, exhibió una reducción en la concentración de plomo en los cortes 1 y 4, incrementando también al fósforo extractable (Cuadro 21).

El análisis de correlación (Cuadro 20A) entre las variables medidas presentó un efecto positivo y altamente significativo entre el P aplicado a los suelos y el P extractable analizado en las muestras de suelo después de la cosecha ($r=0.800^{**}$). De manera general, el rendimiento total de alfalfa cultivada en los suelos de los tres sitios, manifestó una tendencia a disminuir con el tiempo (Cuadro 19).

El Pb es absorbido por las raíces de las plantas, y aunque su translocación es generalmente limitada, puede acumularse en diferentes partes de éstas (Díaz-Aguilar *et al.*, 2001), debido aparentemente a los enlaces que forman las superficies y paredes celulares de las raíces. Esto está relacionado con su afinidad para formar ligandos con compuestos clave relacionados con diversas funciones metabólicas. La acumulación de iones Pb^{2+} en las plantas puede causar múltiples efectos, tanto directos como

indirectos. De acuerdo con la sensibilidad de la planta al efecto tóxico y a la concentración, puede ocasionar cambios en su metabolismo que repercuten en el crecimiento, en el proceso fotosintético y en la absorción de nutrimentos (Díaz-Aguilar *et al.*, 2001).

La concentración de plomo obtenida en el tejido vegetal de alfalfa, en los cuatro cortes, no se considera fitotóxica, de acuerdo con la clasificación que presenta Davis *et al.* (1978), ya que no rebasó los 30 mg kg⁻¹ (Cuadro 22).

Cuadro 22. Concentración de algunos metales pesados en el cultivo de alfalfa.

Autor	Pb	Cd	Ni
	----- mg kg ⁻¹ -----		
Allaway (1968)			
normal	0.1 – 10	0.1 – 0.8	1.0
fitotóxico	----	5 – 30	----
Davis <i>et al.</i> , (1978)			
normal	5.0 – 10.0	0.05 – 0.2	0.1 – 5.0
fitotóxico	30 – 300	3 – 30	10 – 100
Chaney (1983)			
normal	2.5	0.1 – 1.0	0.1 – 5.0
fitotóxico	----	5 – 700	50 – 100

Con relación al efecto de algunos metales en el metabolismo de las plantas, Taylor y Allinson (1981) observaron el impacto del plomo, cadmio y níquel en el crecimiento de la alfalfa. La entrada de plomo a esa planta se relacionó directamente con la concentración aplicada al suelo, pero las dosis altas (aproximadamente 250 mg kg⁻¹) no produjeron efectos negativos en el desarrollo del cultivo.

En el Distrito 03 del estado de Hidalgo, Carrillo y Cajuste (1992) midieron concentraciones de plomo en esa misma especie, también irrigada con las aguas negras, de 21.5 mg kg⁻¹ en raíz y 22.0 mg kg⁻¹ en las hojas, valores muy similares a los que se reportan en el presente trabajo. Pero para dar una explicación de la respuesta de las plantas al plomo, es muy probable que la especiación en la solución en equilibrio con el suelo, sea una alternativa que deba explorarse.

Flores *et al.* (1999) determinaron la absorción de plomo por alfalfa. Para esto, las parcelas sembradas con alfalfa fueron regadas tres semanas después de establecidas, con soluciones que contenían concentraciones crecientes de plomo (5, 10 y 20 mg L⁻¹) y, posteriormente, cada dos semanas durante casi cuatro meses. La alfalfa acumuló más plomo en el tallo y en las hojas (10.7%) que en las raíces (7.8%).

6.5.2 Contenido de cadmio en alfalfa

El análisis de varianza y los valores de Fc para esta variable, indican que los sitios donde se colectaron las muestras de suelo tuvieron un efecto significativo sobre la concentración de cadmio en el cultivo de alfalfa en sus cuatro cortes (Cuadro 23). La adición de azufre a los suelos y la interacción Suelo*S, afectaron de manera importante el contenido de cadmio en el tejido vegetal en algunos cortes.

Cuadro 23. Valores de Fc, obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de Cd en los diferentes cortes de alfalfa.

Corte/ Fuente	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)
Suelo	15.72**	107.39**	34.24**	19.15**
S ²	0.08NS	14.82**	19.88**	17.89**
P ³	10.52**	3.19NS	0.79NS	7.91**
Suelo*S	5.21*	0.30NS	7.53**	5.19*
Suelo*P	4.52**	0.74NS	1.54NS	2.39NS
S*P	8.06**	1.51NS	5.32**	2.64NS
Suelo*S*P	1.80NS	0.99NS	1.84NS	0.47NS

¹ dds= días después de la siembra

²S= Azufre

³P= Fósforo

*significativo ($\alpha \leq 0.05$); **altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); NS= No Significativo

El Cuadro 24 presenta la prueba de Tukey para las diferentes variables en estudio. El suelo de cada sitio influyó de manera significativa en la concentración de Cd en el tejido vegetal de alfalfa en cada uno de los cortes realizados. Los valores promedio de Cd más altos en el tejido vegetal se presentaron en los suelos de los sitios 13 (Tepatepec) y 4 (Tlahuelilpan). La incorporación de azufre y fósforo a los suelos incrementó de forma importante el contenido de Cd en el cultivo.

El análisis de correlación (Cuadro 21A) entre las diferentes variables, muestra una disminución en el rendimiento total de materia seca de alfalfa provocado por la acumulación de cadmio, en los cortes 3 ($r=-0.385^{**}$) y 4 ($r=-0.299^*$).

Cuadro 24. Prueba de Tukey para la concentración de cadmio (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes.

Factor	Nivel	(50 dds ¹)	(85 dds)	(120 dds)	(155 dds)
Suelo	1 Atitalaquia	4.9c*	2.9c	2.0b	3.6b
	4Tlahuelilpan	5.7b	5.9b	1.7b	3.6b
	13 Tepatepec	6.6a	7.0a	2.8a	4.5a
Azufre	0	5.7a	4.8b	1.9b	3.6b
	2	5.8a	5.7a	2.4a	4.2a
Fósforo	0	4.9b	4.9b	2.2a	3.6b
	1000	5.9a	5.1ab	2.1a	4.0a
	2000	6.3a	5.6a	2.2a	4.2a

¹ dds= días después de la siembra

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

Algunas de las concentraciones de Cd observadas (Cuadro 18A), se consideran fitotóxicos para la alfalfa al rebasar los límites normales (1 mg kg^{-1}); según el límite propuesto por Chaney (1983) (Cuadro 22); sin embargo, los efectos sobre las plantas no fueron muy evidentes. Los datos son menores a los reportados por Cajuste *et al.* (1991), quienes observaron un amplio intervalo en la concentración de metales en el tejido de alfalfa; sin embargo, en el caso del Cd, los valores reportados en la planta (0.4 mg kg^{-1}) se encuentran por debajo de los niveles de tolerancia reportados por algunos investigadores.

Se considera que los metales traza constituyen riesgos significativos para la salud humana, el Cd es de particular interés debido a que puede acumularse en plantas e internarse a la cadena alimenticia a niveles que son tóxicos para los humanos y animales, aunque no presente daños fitotóxicos visibles (Pinto *et al.*, 2004).

La presencia de concentraciones fitotóxicas de Cd podría afectar procesos que no son evidentes a simple vista, muchos de esos son subcelulares, como (i) la fotosíntesis y los procesos relacionados, (ii) actividades enzimáticas o de las enzimas, (iii) asimilación

de nutrientes, y (iv) relaciones planta-agua con un gran impacto en procesos metabólicos (Díaz, 1999; Pinto *et al.*, 2004).

Carrillo y Cajuste (1992), en un estudio de campo llevado a cabo para examinar las concentraciones de metales pesados en alfalfa (*Medicago sativa* L.), regado con tres fuentes de aguas residuales (con niveles alto, medio y bajo de contaminantes), en la misma zona de estudio donde se colectaron suelos para la presente investigación, encontraron concentraciones de Cd (4 mg kg^{-1}) en el suelo regado con aguas residuales con un nivel alto de contaminantes. En plantas de alfalfa desarrolladas en este suelo, el intervalo de concentración del Cd fue de 1.8 a 4.0 mg kg^{-1} , valores muy similares a los reportados en el presente estudio. Aunque esas concentraciones pueden no parecer fitotóxicas, se han observado cambios en la susceptibilidad de las plantas a la incidencia de enfermedades, a la mal nutrición y reducción de sus funciones metabólicas (Díaz, 1999).

Estos mismos autores, en 1995, determinaron el comportamiento de metales pesados en suelos del Distrito de Riego 03, en el estado de Hidalgo, México. Los niveles de Cd observados en el cultivo de alfalfa ($2.2 - 8.0 \text{ mg kg}^{-1}$) resultaron más altos que los niveles normales reportados por Allaway (1968), concluyendo que estas concentraciones podrían ser fitotóxicas.

6.5.3 Contenido de níquel en alfalfa

Los valores de Fc obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de Ni en los diferentes cortes de alfalfa (Cuadro 25) presentan efectos significativos entre suelos y entre las cuatro interacciones analizadas.

Cuadro 25. Valores de Fc, obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de níquel en los diferentes cortes de alfalfa.

orte/ Fuente	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)
Suelo	65.26**	34.94**	66.81**	51.29**
S ²	7.16*	8.33**	10.79**	15.12**
P ³	5.09*	2.39NS	3.07NS	8.95**
Suelo*S	15.03**	11.94**	6.65**	5.76**
Suelo*P	9.49**	5.93**	3.25*	0.41NS
S*P	4.95*	4.36*	1.17NS	5.09*
Suelo*S*P	2.40NS	5.03**	1.88NS	3.44*

¹ dds= días después de la siembra

²S= Azufre

³P= Fósforo

*significativo ($\alpha \leq 0.05$); **altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); NS= No Significativo

El tipo de suelo influyó de forma significativa en la concentración de Ni en el tejido vegetal en los cortes de alfalfa (Cuadro 26). La alfalfa establecida en el suelo del sitio 13 (Tepatepec) acumuló más níquel (Cuadro 19A). De manera general, la aplicación de azufre y fósforo a los suelos de los sitios en estudio aumentó el contenido de Ni en el tejido vegetal; al aumentar el P se incrementó la absorción de Ni al menos en el primer corte; en los cortes sucesivos la respuesta fue errática. La combinación de P y S hizo disminuir ligeramente la absorción de Ni.

La cantidad de níquel absorbida por las plantas se redujo en los cortes subsiguientes, tomando como referencia el 2° corte, donde se detectaron las concentraciones mayores (20.0 – 24.4 mg kg⁻¹).

El análisis de correlación (Cuadro 22A) entre las variables en estudio muestra una clara disminución en el rendimiento total de materia seca de alfalfa, por efecto del contenido de Ni en el tejido vegetal, aparentemente consecuencia del efecto tóxico del níquel.

Cuadro 26. Prueba de Tukey para la concentración de níquel (mg kg^{-1}) en el cultivo de alfalfa en diferentes cortes.

Factor	Corte/ Nivel	1 (50 dds ¹)	2 (85 dds)	3 (120 dds)	4 (155 dds)
Suelo	1 (Atitalaquia)	11.2b*	24.4a	9.0b	6.4b
	4 (Tlahuelilpan)	10.0b	16.4c	10.0b	9.9a
	13 (Tepatepec)	16.7a	20.0b	14.3a	10.7a
Azufre	0	11.9b	19.2b	10.5b	8.3b
	2	13.3a	21.4a	11.8a	9.7a
Fósforo	0	11.5b	21.2a	10.6b	7.9b
	1000	12.8ab	19.2a	11.1ab	9.6a
	2000	13.5a	20.6a	11.8a	9.5a

¹dds= días después de la siembra

* Las medias con las mismas literales dentro de las columnas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha \leq 0.05$)

La concentración de Ni en el tejido vegetal de los cuatro cortes de alfalfa realizados, supera los valores normales propuestos por diversos autores (Davis *et al.*, 1978; Chaney, 1983) (Cuadro 22), ubicándolos en niveles fitotóxicos, según la clasificación de Davis *et al.* (1978).

Cajuste *et al.* (1991), observaron un amplio intervalo en la concentración de metales en el tejido de alfalfa, en un estudio efectuado en el valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, México. Para el caso de Ni reportan concentraciones en hoja de alfalfa de 3.7 a 11.9 mg kg^{-1} .

En la misma zona, Carrillo y Cajuste (1992), en un estudio de campo llevado a cabo para examinar las concentraciones de EPT en alfalfa regada con tres fuentes de aguas residuales, reportaron concentraciones en tejidos de la hoja que variaron de 0.5 hasta 14.0 mg kg^{-1} .

En 1995, estos mismos autores determinaron el comportamiento de EPT en suelos del Distrito de Riego 03, en el estado de Hidalgo, México. Los niveles de Ni determinados en el cultivo de alfalfa (2.2 – 13.0 mg kg^{-1}), resultaron más altos que los niveles normales reportados en algunos trabajos (Allaway, 1968; Davis *et al.*, 1978; Chaney, 1983) (Cuadro 22), concluyendo que estas concentraciones podrían ser fitotóxicas para el cultivo. Otros investigadores (Cuadro 27) también han reportado concentraciones diferentes para Pb, Cd y Ni, en el valle del Mezquital, Hgo.

Cuadro 27. Concentración de Pb, Cd y Ni en alfalfa, irrigada con agua residual en algunos sitios seleccionados en el valle del Mezquital, Hgo.

Pb	Cd	Ni	Referencia
----- mg kg ⁻¹ -----			
1.2 – 5.7	0.7 – 2.3	3.8 – 7.2	Vázquez-Alarcón <i>et al.</i> (2001)
0.1 – 0.42	0.02	N.C	Siebe (1997)
8.0 – 19.0	1.0 – 8.0	2.2 – 13.0	Carrillo y Cajuste (1995)
0.2 – 0.35	0.05 – 2.0	N.C*	Siebe (1994)
7.0 – 17.0	0.5 – 0.8	2.0 – 8.6	Carrillo <i>et al.</i> (1992)
8.9 – 14.5	0.4 – 0.6	5.7 – 11.9	Cajuste <i>et al.</i> (1991)
4.4 – 11.3	0.3 – 1.05	6.0 – 10.9	Mejía <i>et al.</i> (1990)

*N.C= No cuantificado

6.6. Difractogramas

Después del experimento en el invernadero, se seleccionaron y analizaron, por difracción de rayos x, algunas muestras de los tres suelos con diferentes tratamientos de azufre y fósforo (Cuadros 23A, 24A y 25A) de los sitios en estudio.

En el Cuadro 23A se observa que a medida que el pH disminuye (9.1 A 7.1) con la aplicación de los tratamientos con azufre y fósforo al sitio 1, uno de los metales en estudio (Pb) fue detectado en forma elemental y, además, formando nuevos minerales, como la galena (PbS), la claustalita (PbSe) y la gladita (PbCuBi₅S₉), mientras que la calcita (CaCO₃) desapareció. En el tratamiento (0-500) se detectó un mineral, aún sin identificar que contiene cadmio y níquel {[Rb₂Cd(Ni, Cd)NO₂]₆}.

En el suelo del sitio 4-Tlahuelilpan, donde el pH fue disminuyendo desde 8.5 hasta 6.8 (Cuadro 24A), se detectaron los siguientes minerales conteniendo níquel y plomo: bunsenita (NiO), gustavita (PbAgBi₃S₆), alamosita [Pb(SiO₃)], dufrenoisita (Pb₂As₂S₅) y linarita [PbCu(SO₄)(OH)₂].

Con relación al suelo del sitio 13-Tepatepec (Cuadro 25A), cuyo pH varió de 8.5 a 6.6, dependiendo del tratamiento aplicado, se formaron los siguientes minerales de plomo: alamosita [Pb(SiO₃)], weibulita (Pb₅Bi₈Se₇S₁₁), dumontita [Pb₂(VO₂)₃(PO₄)₂(OH)₄.3

H₂O], litarga (PbO), glanita (PbCuBi₅S₉), altaíta (PbTe), crocoíta (PbCrO₄) y larsenita (PbZnSiO₄).

En el presente estudio no se detectó piromorfita en ninguna de las muestras analizadas, probablemente porque éstas no fueron separadas en sus diferentes fracciones (arena, limo y arcilla); aunque existe la posibilidad de que ésta esté en forma amorfa, no se tienen pruebas para argumentar su formación. Además, los suelos seleccionados para este estudio tuvieron en promedio de 30 a 70 años de estar siendo regados con aguas residuales, y posiblemente por el corto tiempo, esta fue otra de las razones por las que no se encontró piromorfita.

Este mineral se forma en los suelos por un proceso de intemperismo o alteración, en el cual el plomo entra a una fase más estable termodinámicamente. La cantidad de piromorfita en los suelos está influenciada, aparentemente, por el periodo de tiempo de contaminación y la concentración total de plomo. Las cantidades más grandes de este mineral se encuentran en suelos donde están presentes altas concentraciones de plomo (>10,000 µg g⁻¹) por un periodo de tiempo largo (>200 años) (Cotter-Howells, 1994).

Los fosfatos de cadmio y plomo son los compuestos termodinámicamente más estables en el intervalo de pH encontrado normalmente en el suelo superficial.

7. CONCLUSIONES

1. Se observó variación del contenido de los EPT en los suelos muestreados, además, en algunas de sus propiedades, como contenido de materia orgánica y arcilla, pH y otras variables que tienen fuerte influencia en la disponibilidad de los EPT y la calidad agrícola de los suelos, por lo que un estudio comparativo de suelos es complejo.
2. La adición de azufre y fósforo disminuyó el pH y por consiguiente, algunas fracciones de Pb como la ligada a carbonatos (FIII), óxidos (FIV) y a la materia orgánica (FV) se solubilizaron, liberando Pb a la solución del suelo, el cual se asoció a la fracción intercambiable (FII), incrementando su concentración.
3. La adición de azufre y fósforo a los suelos redujo el contenido de Cd en la fracción ligada a los carbonatos (FIII), ocasionada posiblemente por la disolución de éstos al acidificarse el suelo. Como consecuencia, se incrementó el contenido de Cd en las fracciones soluble (I) e intercambiable (FII).
4. Al aplicar azufre y fósforo a los suelos, se observó una disminución en la fracción de Ni ligada a los carbonatos (FIII) y óxidos de Fe-Mn (FIV) y un incremento en las fracciones soluble (FI), intercambiable (FII) y ligada a la materia orgánica (FV).
5. Los tratamientos de azufre y fósforo influyeron significativamente en los valores de pH y CE, observándose reducción del pH y mayor concentración de sales solubles.
6. La biomasa de maíz, al igual que la concentración de los metales Pb y Cd, variaron con el tipo de suelo.

7. Las concentraciones de Pb, Cd y Ni obtenidos en la parte aérea de las plantas de maíz, con la adición de los tratamientos azufre y fósforo, no mostraron diferencias significativas respecto al tratamiento control.
8. Las concentraciones de Pb y Cd determinados en el tejido de maíz no están dentro de los valores considerados como fitotóxicos para la planta; mientras que los valores de Ni obtenidos sobrepasan los intervalos considerados como normales para los cultivos.
9. La aplicación de fósforo disminuyó la biomasa total de alfalfa, posiblemente por la drástica reducción en los valores de pH de los suelos.
10. La naturaleza de los suelos afectó el contenido de Pb, Cd y Ni en el tejido de alfalfa en los cuatro cortes.
11. La adición de azufre y fósforo a los suelos redujo el contenido de Pb, a medida que el cultivo de alfalfa crecía. Sin embargo, para el caso de Cd y Ni, los niveles se incrementaron.
12. La concentración de Pb obtenida en el tejido vegetal de alfalfa, no se considera fitotóxica; en tanto que los contenidos de Cd y Ni rebasaron los límites normales; aunque los efectos sobre las plantas no fueron evidentes.
13. La adición de fósforo y azufre al suelo no parecen ser justificados, tomando en cuenta que no se abatió la cantidad de metales disponibles; sin embargo, no se evaluó el efecto del tiempo después de la adición de enmiendas sobre la disponibilidad de los elementos.
14. Los difractogramas mostraron la formación de diversos minerales de plomo, cadmio y níquel en los suelos estudiados; sin embargo, no se detectó piromorfita en ninguna de las muestras analizadas, aunque existe la posibilidad de que se encuentre en estado amorfo.

8. SUGERENCIAS

1. Es necesario rediseñar los experimentos para evaluar las consecuencias de la ruptura de la capacidad de amortiguamiento del suelo, por adición de compuestos con reacción ácida, y del efecto de la resiliencia del suelo sobre la disponibilidad de los metales, en función del tiempo.
2. Será necesario realizar este tipo de trabajos en campo, aplicando azufre y fósforo y utilizando diferentes variedades de maíz y alfalfa, además de realizar un estudio económico.
3. Muestrear los suelos periódicamente, para detectar los cambios ocurridos en función del tiempo.
4. Hacer experimentos sencillos utilizando suelos con propiedades contrastantes.

9. LITERATURA CITADA

Adriano, D. C., and M. A. Elrashidi. 1994. Interactions of contaminants with soil components and environmental restoration. 15th World Congress of Soil Science. Mexican Society of Soil Science. International Society of Soil Science. Vol. 3a. Comission II: Symposia. Acapulco, México. pp. 667-692.

Adriano, D.C. 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd ed. Springer. New York, NY, USA.

Allaway, W.H. 1968. Agronomic controls environmental cycling of trace elements. *Adv. Agron.* 20:235-274.

Alloway, B.J. 1995. Cadmium. *In: B. J. Alloway (ed.). Heavy metals in soils.* pp. 122-151. Blackie Academic & Professional. 2nd ed. London.

Alloway, B.J. 1995. Soil processes and the behavior of heavy metals. *In: B. J. Alloway (ed.). Heavy metals in soils.* pp. 11-37. Blackie Academic & Professional. 2nd ed. London.

Angelova, V., K. Juanov, and R. Ivanova. 2004. Effect of chemical forms of lead, cadmium and zinc in polluted soils on their uptake by Tobacco. *J. Plant Nutr.* 27:757-773.

Arduini, Y., D.L. Godbold, and A. Onnis. 1996. Cadmium and copper uptake and distribution in mediterranean tree seedlings. *Physiol. Plant.* 97:111-117.

Arnich, N., M.C. Lanhers, F. Laurenso, R. Podor, A. Montiel, and D. Burnel. 2003. In vitro and in vivo studies of lead immobilization by synthetic hydroxyapatite. *Environ. Pollut.* 124:139-149.

Barancikova, G., and J. Makovnikova. 2003. The influence of humic acid quality on the sorption and mobility of heavy metals. *Plant Soil Environ.* 49:565-571.

Bartlett, R.J. 1999. Characterizing soil redox behavior. *In: D.L. Sparks (ed.). Soil physical chemistry.* pp. 371-397. 2nd. ed. CRC Press. Boca Raton, FLA, USA.

Basta, N., R. Gradwohl, K. Snethen, and J. Schroder. 2001. Chemical immobilization of lead, zinc and cadmium in smelter contaminated soils using biosolids and rock phosphate. *J. Environ. Qual.* 30:1222-1230.

Bataillard, P., P. Cambier, and C. Picot. 2003. Short-term transformations of lead and cadmium compounds in soil after contamination. *Eur. J. Soil Sci.* 54.365-376.

Boisson, J., M. Mench, J. Vangronsveld, A. Ruttens, P. Kopponen, and T. De Koe. 1999. Immobilization of trace metals and arsenic by different soil additives: Evaluation by means of chemical extractions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30:365-387.

Bolan, N.S., D.C. Adriano, and D. Curtis. 2003. Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and bioavailability. *Adv. Agron.* 78:215-272.

Boussama, N., O. Ouariti, and M.H. Ghorbal. 1999a. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cadmium stress. *J. Plant Nutr.* 22:731-752.

Boussama, N., O. Ouariti, A. Suzuki, and M.H. Ghorbal. 1999b. Cd-Stress on nitrogen assimilation. *J. Plant Physiol.* 155:310-317.

Bradford, G.R., A.L. Page, J.L. Lund, and W. Olmstead. 1975. Trace element concentrations of sewage treatment plant effluents and sludges: Their interactions with soil and uptake by plants. *J. Environ. Qual.* 4:123-127.

Brady, N.C., and R.R. Weil. 1999. *The nature and properties of soils.* 12th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. USA.

Brown, P.H., R.M. Welch, and E.E. Cary. 1988. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiol.* 85:801-803.

Cajuste, J.L. 1977. *Química de suelos con un enfoque agrícola.* Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.

Cajuste, L., J., R. Carrillo G., E. Cota G., and R. J. Laird. 1991. The distribution of metals from wastewater in the Mexican Valley of Mezquital. *Water Air and Soil Pollut.* 57-58:763-771.

Cajuste, J.L., R. Carrillo-González, R.J. Laird, and L. Cajuste, Jr. 1996. Adsorption of lead and cadmium by some volcanic ash soils. *J. Environ. Sci. Health A* 31(2): 339-354.

Cajuste, J.L., J. Cruz D., and B. Cuevas-González. 1998. Distribution and bioavailability of trace elements from metal contaminated soils. 16th. World Congress of Soil Science. Montpellier, France. Vol. II.

Cajuste, J.L., A. García-Z, C. García-O., G. Bautista-S., J. Cruz-D., and A. Ruíz-B. 1999. Heavy metal distribution in contaminated soils as influenced by phosphorus application. Annual Meeting Abstracts. American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society of America. Salt Lake City, Utah.

Cajuste, J.L., J. Cruz-Díaz, and C. García-Osorio. 2000. Extraction of heavy metals from contaminated soils: I. Secuential extraction in surface soils and their relationships to DTPA extractable metals and metal plant uptake. *J. Environ. Sci. Health* 35:1141-1152.

Canet, R., F. Pomares, and F. Tarazona. 1997. Chemical extractability and availability of heavy metals after seven years application of organic wastes to a citrus soil. *Soil Use and Management*. 13:117-121.

Carrillo, G.R., and L. Cajuste J. 1992. Heavy metals in soils and alfalfa (*Medicago sativa* L.) irrigated with three sources of wastewater. *J. Environ. Sci. Health* 27:1771-1783.

Carrillo G.R., L. Cajuste J. y L. Hernández H. 1992. Acumulación de metales pesados en un suelo regado con aguas residuales. *Terra* 10:166-173.

Carrillo G.R., J. Cruz D. y L. Cajuste J. 1993. Efecto del Cd y Pb en la asimilación de micronutrientes y en el desarrollo del maíz. pp. 599-606. *In: El estudio del suelo y de su degradación en relación con la desertificación*. Sociedad Española de la Ciencia del Suelo. Tomo II. Salamanca, España.

Carrillo, G.R., and L. Cajuste J. 1995. Behavior of trace metals in soils of Hidalgo, México. *J. Environ. Sci. Health* 30:143-155.

Carrillo-González, R., J. Simůnek, S. Sauvé, and D. Adriano. 2006. Mechanisms and pathways of trace element mobility in soils. *Adv. Agron.* 91:111-178.

Carrillo-González, R. and M.C.A. González-Chávez. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environ. Pollut.* 144:84-92.

Carrillo-González, R. and M.C.A. González-Chávez. 2011. Tolerance to and accumulation of cadmium by the mycelium of the fungi *Sclerotinia citrinum* and *Pisolithus tinctorius*. *Biol. Trace Elem. Res.* 011:9267-7

Chaney, R.L. 1983. Potential effects of waste constituents on the food chain. p. 152-240. *In: J.F. Parr et al. (eds.). Land treatment of hazardous wastes*. Noyes Data Corp. Park Ridge, NY, USA.

Chen, H.M., C.R. Zheng, C. Tu, and Z.G. Shen. 2000. Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* 41:229-234.

Chlopecka, A., J.R. Bacon, M.J. Wilson, and J. Kay. 1996. Forms of cadmium, lead, and zinc in contaminated soils from southwest Poland. *J. Environ. Qual.* 25:69-79.

Chrysochoou, M., D. Dermatas, and D. Grubb. 2007. Phosphate application to firing range soils for Pb immobilization: the unclear role of phosphate. *J. Hazard Matter.* 144:1-14.

Cotter-Howells, J. 1994. Heavy metal phosphate formation in soils. 15th World Congress of Soil Science. Mexican Society of Soil Science. International Society of Soil Science. Vol. 8b: Commission VII: Poster Sessions. Acapulco, México. pp. 42-43

Covelo, E.F., M.L. Andrade-Couce, and F.A. Vega. 2004. Competitive adsorption and desorption of cadmium, chromium, copper, nickel, lead, and zinc by Humic Umbrisols. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 35:2709-2729.

Davies, B.E. 1994. Soil chemistry and bioavailability with special reference to trace elements. pp. 1-29 *In*: E. M. Farago (ed.) *Plants and the chemical elements*. VCH. Weinheim (Federal Republic of Germany).

Davies, B.E. 1995. Lead. *In*: B. J. Alloway (ed.). *Heavy metals in soils*. pp. 206-223. Blackie Academic & Professional. 2nd ed. London.

Davis, R.D., P.H.T. Beckett, and E. Wollan. 1978. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant Soil* 49:395-408.

Díaz A., I. 1999. Efectos del cadmio, níquel y plomo en procesos fisiológicos del trigo (*Triticum aestivum* L.). Tesis de Maestría en Ciencias. Especialidad de Edafología. Instituto de Recursos Naturales (IRENAT). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México.

Díaz-Aguilar I., M.V. Larqué-Saavedra, G. Alcántar-González, R. Carrillo-González y A. Vázquez-Alarcón. 2001. Alteración de algunos procesos fisiológicos en trigo por la adición de plomo. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 17:79-90.

Duchaufour, P. 1970. *Precis de Pedologie*. 13^a. ed. Masson, Paris, France.

Dudka, S., M. Piotrowska, and A. Chlopecka. 1994. Effect of elevated concentrations of Cd and Zn in soil on spring wheat yield and the metal contents of the plants. *Water, Air Soil Pollut.* 76:333-341.

Enfield, C.G., and R. Ellis Jr. 1983. The movement of phosphorus in soil. *In*: D.M. Kral (ed.). *Chemical mobility and reactivity in soil systems*. pp. 93-107. SSSA. Special publication Number 11. Madison, WI, USA.

Elzahabi, M., and R.N. Yong. 2001. pH influence on sorption characteristics of heavy metal in the vadose zone. *Eng. Geol.* 60:61-68.

Fellipe, C.P., S.M. Gerra M., G.J. Goncalves P., A. Pierre V., and R. Antunez A. 2002. Response of rice inbred lines to cadmium exposure. *J. Plant Nutr.* 25:927-944.

Ferbo, W., and Guoping Z. 2002. Genotypic variation in kernel heavy metal concentrations in barley and as affected by soil factors. *J. Plant Nutr.* 25:1163-1173.

Flores T., F.J., E.M. Muñoz S. y O. Morquecho B. 1999. Absorción de cromo y plomo por alfalfa y pasto ovillo. *Agrociencia* 33:381-388.

Freney, J.R. 1986. Forms and reactions of organic sulfur compounds in soils. *In: M.A. Tabatabai (ed.) Sulfur in Agriculture. Number 27. Serie Agronomy. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.*

Gambrell, R.P. 1994. Trace toxic metals in wetlands-A review. *J. Environ. Qual.* 23:883-891.

García A.S., L. Eloy T. y O. Cárdenas Z. 1998. Desarrollo autosugestivo en comunidades indígenas del Valle del Mezquital. La experiencia de SEDA-COVAC. Red de Gestión de Recursos Naturales. Fundación Rockefeller. México, D.F.

García, M.A., J.M. Chimenos, A.I. Fernandez, L. Miralles, M. Segarra, and M. Espiell. 2004. Low-grade MgO used to stabilize heavy metals in highly contaminated soils. *Chemosphaera* 56:481-491.

García Z., A.M. y L. Cajuste J. 2000. Efecto de la aplicación de fósforo sobre la movilidad de metales pesados en suelos y plantas del Valle del Mezquital, Hgo., pp. 260-263. *In: R. Quintero-Lizaola et al. (eds.). La edafología y sus perspectivas al siglo XXI. Tomo I. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, UNAM. UACH. México.*

Gee, G.W. y J.W. Bauder. 1986. Particle size density. *In: A. Klute (ed.). Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. SSSA. Madison, Wis. USA.*

Geebelen, W., D.C. Adriano, D. van der Lelie, M. Mench, R. Carleer, H. Clijsters, and J. Vangrosveld. 2002. Selected bioavailability assays to test the efficacy of amendment-induced immobilization of lead in soils. *Plant Soil* 249: 217-228.

González, F.E., M.A.C. Tornero, Y.C. Angeles, y N.F. Bonilla. 2009. Concentración total y especiación de metales pesados en biosólidos de origen urbano. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25:15-22.

González-Flores, E., M.A. Tornero-Campante, E. Sandoval-Castro, A. Pérez-Magaña, y A.J. Gordillo-Martínez. 2011. Biodisponibilidad y fraccionamiento de metales pesados en suelos agrícolas enmendados con biosólidos de origen municipal. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 27:291-301.

Groenenberg, J.E., P.F.A.M. Römkens, R.N.J. Comans, J. Luster, T. Pampura, L. Shotbolt, E. Tipping, and W. de Vries. 2010. Transfer functions for solid-solution partitioning of cadmium, copper, nickel, lead and zinc in soils: derivation of relationships for free metal ion activities and validation independent data. *Eur. J. Soil Sci.* 61:58-73.

Guerrero P., A. 1999. Métodos para el análisis químico de azufre en el suelo. Tesis de Maestría. Instituto de Recursos Naturales. Especialidad de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Guo, X., Zhang S., Shan X., Luo I., Zhiguo P., Zhu Y., Xie Y., and Gault A. 2009. Characterization of Pb, Cu and Cd adsorption on particulate organic matter in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 25:2366-2373.

Guo, Y., and H. Marschner. 1995. Uptake, distribution, and binding of cadmium and nickel in different plant species. *J. Plant Nutr.* 18:2691-2706.

Gutiérrez, R.M., Ch. Siebe, and I. Sommer. 1994. Environmental aspects of land applications of wastewater from México City Metropolitan Area: a bibliographical review and analysis of implications. 15th World Congress of Soil Science. Mexican Society of Soil Science. International Society of Soil Science. Vol. 3a. Commission II: Symposia. Acapulco, México. pp. 445-466.

Havlin., J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. 1999. Soil Fertility and fertilizers. An introduction to nutrient management. 6th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. USA.

He, Q.B., and B.R. Singh. 1994. Crop uptake of cadmium from phosphorus fertilizers: I. Yield and cadmium content. *Water, air, soil pollut.* 74:251-265.

Hettiarachchi, G.M., G.M. Pierzynski, and M.D. Ransom. 2001. In situ stabilization of soil lead using phosphorus. *J. Environ. Qual.* 30:1214-1221.

Inskeep, W.P., and J. Baham. 1983. Adsorption of Cd (II) and Cu (II) by Namontmorillonite at low surface coverage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47:660-665.

Iretskaya, S.N., and S. Chein H. 1999. Comparison of cadmium uptake by five different food grain crops grown on three soils of varying pH. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30:441-448.

Jones, B.J., and B. Wolf. 1984. Manual soil testing procedure using modified (Wolf) Morgan extracting reagent. Benton Laboratories INC. Athens, GA, USA.

Kaasalainen, M., and M. Yli-Halla. 2003. Use of sequential extractions to assess metal partitioning in soils. *Environ. Pollut.* 126:225-233.

Kabata-Pendias, A., and H. Pendias. 2000. Trace elements in soils and plants. CRC. Michigan, USA.

Kabata-Pendias, A., M. Piotrowska, and S. Dudka. 1993. Trace metals in legumes and monocotyledons and their suitability for the assessment of soil contamination. pp.485-494. *In: B. Markert (ed.) Plants as biomonitors-indicators for heavy metals in the terrestrial environment.* VCH. Verlagsgesellschaft. Weinheim, Germany.

Kiikkilä, O., J. Perkiömäki, M. Barnette, J. Derome, T. Pennanen, E. Tulisalo, and H. Fritze. 2001. In situ bioremediation through mulching of soil polluted by a copper-nickel smelter. *J. Environ. Qual.* 30:1134-1143.

Kim, B., and M. B. McBride. 2006. A test of sequential extractions for determining metal speciation in sewage sludge-amended soils. *Environ. Pollut.* 144:475-482.

Kumpiene, J., A. Lagerkvist, and Ch. Maurice. 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review. *ScienceDirect. Waste Manag.* 28:215-225.

Lane, S.D., and E.S. Martin. 1980. Further observations on the distribution of lead in juvenile roots of *Raphanus sativus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 98:437-452.

Laperche, V., S. Traina, P. Gaddam, and T. Loggan. 1996. Chemical and mineralogical characterizations of Pb in a contaminated soil: reactions with synthetic apatite. *Environ. Sci. Tech.* 30:3321-3326.

Lee, S.M., and T. Leustek. 1999. The effect of cadmium on sulphate assimilation enzymes in *Brassica juncea*. *Plant Sci.* 141:201-207.

Leita, L.M. De Nobili, S. Cesco, and C. Mondini. 1996. Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean. *J. Plant Nutr.* 19:527-533.

Letelier A.E. 1967. Manual de fertilizantes para Chile. Banco del Estado, Santiago, Chile.

Levensan, H.S., L. Mahler, W. P. Black, and T. Hood. 2006. Lead resistance and sensitivity in *Staphylococcus aureus*. *FEMS. Microbial Lett.* 415:421-425.

Lindsay, W. L. and W. A. Norvell. 1978. Development of DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. *J. Am. Sci. Soil.* 42:421-428.

Lindsay, W.L., P.L.G. Vlek, and S.H. Chien. 1989. Phosphate minerals. *In: J.B. Dixon, and S.B. Weed (eds.). Minerals in soil environments.* Number 1 in the Soil Science Society of America. Book Series. SSSA. Madison, WI, USA.

Loeppert, R.H., and D.I. Suarez. 1996. Carbonate and gypsum. pp. 437-474. *In*: J.M. Bartels (ed.). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Number 5 in the Soil Science Society of America Book Series. SSSA. ASA. Madison, WI, USA.

Luzio, L.W. 1982. Taxonomía de suelos: Un sistema básico de clasificación de suelos para hacer e interpretar reconocimientos de suelos. Versión abreviada en español de "Soil Taxonomy" (1975). Soil Management Support Services. SMSS Technical Monograph No. 5. United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA

Ma, Q.Y., Traina S.J. and Logan T.J. 1993. In situ lead immobilization by apatite. *Environ. Sci. Technol.* 27:1803-1810.

Ma, Q.Y., T.J. Logan, S.J. Traina, and J. Ryan 1994a. Effects of NO_3^- , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} and CO_3^{2-} on Pb^{2+} immobilization by hidroxiapatite. *Environ. Sci. Technol.* 28:408-418.

Ma, Q.Y., S.J. Traina, T.J. Logan, and J. Ryan 1994b. Effects of aqueous Al, Cd, Cu, Fe (II), Ni and Zn on Pb immobilization by hidroxiapatite. *Environ. Sci. Technol.* 28:1219-1228.

Macnicol, R.D., and P.H.T. Beckett. 1985. Critical tissue concentrations of potentially toxic elements. *Plant Soil* 85:107-129.

Manceau, A., J.C. Hargé, C. Bartali, E. Sylvester, J.L. Hazermann, M. Mench, and D. Baize. 1997. Sorption mechanism of Zn and Pb on birnessite: application to their speciation in contaminated soils. Proc. 4th Int. Conf. Biogeochem. Trace elements. *In*: I. Izkandar, S.E. Hardy, A.C. Chang, and G. Pierzinski (eds.). Berkeley, CA. 403-404.

Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. London.

McBride, M.B. 1989. Reactions controlling heavy metals solubility in soils. *Adv. Soil Sci.* 10:1-56.

McBride, M.B. 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford University Press. New York, NY, USA.

Mc Grath, S.P. 1995. Chromium and nickel. *In*: B. J. Alloway (ed.). Heavy metals in soils. pp. 152-178. Blackie Academic & Professional. 2nd ed. London.

Mehra, A., and M.E. Farago. 1994. Metal ions and plant nutrition pp. 31-66. *In*: M. E. Farago (ed.). Plants and the chemical elements. Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity, VCH. Verlagsgesellschaft, Weinheim (Federal Republic of Germany).

Melamed, R., X. Cao, M. Chen, and Ma. L. Q. 2003. Field assessment of lead immobilization in a contaminated soil after phosphate application. *Sci. Total Environ.* 305: 117-127.

Mench, M.J., V.L. Didier., M. Loffler, A. Gomez, and P. Masson. 1994. A mimicked in-situ remediation study of metal contaminated soils with emphasis on Cadmium and Lead. *J. Environ. Qual.* 23:58-63.

Mench, M., C.H.M. Vangronsveld., N. W. Lepp, and R. Edwards. 1998. Physico-chemical aspects and efficiency of trace element immobilization by soil amendments. p. 151-182. *In: J.C.H.M., Vangronsveld, S. D. Cunningham, N. W. Lepp, and M. Mench (eds.). Metal contaminated soils: In situ inactivation and phytoremediation.* R. G. Landes, Georgetown, TX, USA.

Ministry of Agriculture Fisheries and Food (MAFF). 1986. The analysis of agricultural materials. 3rd ed. London, England. pp: 23-35.

Miretzky, P., and A. Fernandez-Cirelli. 2008. Phosphates for Pb immobilization in soils: a review. *Environ. Chem. Lett.* 6:121-133.

Moral, R., R.J. Gilkes and M.M. Jordan. 2005. Distribution of heavy metals in calcareous and non calcareous soils in Spain. *Water, Air Soil Pollut.* 162:127-142.

Murillo, J.M., T. Marañón, F. Cabrera, and R. Lopez. 1999. Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar spill. *Sci. Total Environ.* 242:281-292.

Naidu, R., N.S. Bolan, R.S. Kookona, and K.G. Tiller. 1994. Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils. *Eur. J. Soil Sci.* 45:419-429.

Naidu, R., and R.D. Harter. 1998. Effect of different organic ligands on cadmium sorption by and extractability from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62:644-650.

Nannipieri, P., J. Ascher, M.T. Ceccherini, L. Landi, G. Pietramellara, G. Renella, and F. Valeri. 2007. Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. *Ciencia del Suelo* 25:89-97.

Ni, W., Long X., and Yang X. 2002. Studies on the criteria of cadmium pollution on growth media of vegetable crops based on the hygienic limit of cadmium in food. *J. Plant Nutr.* 25:957-968.

Nriagu, J.O. 2003. Lead orthophosphates-IV. Formation and stability in the environment. *Geochimica et Cosmochimica. Acta:* 38:887-898.

Olsen, S.R., and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. pp. 403-430. *In: A.L. Page (ed). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* 2nd Ed. ASA. SSSA. Madison, WI, USA.

O'Neill, P. 1993. Environmental chemistry. 2nd ed. Chapman & Hall. University of Plymouth. Department of Environmental Sciences. Plymouth, UK.

Ortega-Larrocea, M.P., B. Xoconostle-Cázares, I.E. Maldonado-Mendoza, R. Carrillo-González, J. Hernández-Hernández, M. Díaz G., M. López-Meyer, L. Gómez-Flores, M.C. González-Chávez. 2010. Plant and fungal biodiversity from metal mine wastes under remediation at Zimapan, Hidalgo, México. *Environ. Pollut.* 158:1922-1931.

Pais, I. and J.B. Jones. 1997. The handbook of trace elements. CRC Press. Boca Raton, FLA, USA.

Pasricha, N.S., and R.L. Fox. 1993. Plant nutrient sulfur in the tropics and subtropics. *Adv. Agron.* 50:209-269.

Peterson, C.A., and D.E. Enstone. 1996. Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiol. Plant.* 97:592-598.

Pinto, A.P., M.T. Vilar., F.C. Pinto., and A.M. Mota. 2004. Organic matter influence in cadmium uptake by sorghum. *J. Plant Nutr.* 27:2175-2188.

Piotrowska, M., and S. Dudka. 1994. Estimation of maximum permissible levels of cadmium in light soil by using cereal plants. *Water, Air, Soil Pollut.* 73:179-188.

Pratt, P.F., F.L. Bair, and G.W. McLean. 1964. Reactions of phosphate with soluble and exchangeable nickel. *Soil Sci. Soc. Proc.* 1508:363-365.

Prince, W. SPM., P. Senthil K., K. Doberschutz D., and V. Subburam. 2002. Cadmium toxicity in mulberry plant with special reference to the nutritional quality of leaves. *J. Plant Nutr.* 25:689-700.

Rachou, J., W. Hendershot, and S. Sauvé. 2004. Effects of pH on fluxes of cadmium in soils measured by using diffusive gradients in thin films. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 35:2655-2673.

Ramos, L., L.M. Hernández, y M.J. González. 1994. Sequential fractionation of copper, lead, cadmium and zinc in soils from or near Doñana national park. *J. Environ. Qual.* 23:50-57.

Richards, L.A. 1985. (Ed). Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Limusa. México, D.F.

Rivera C., M. del C. y A. Trujillo M. 1998. Las leguminosas y la contaminación por metales pesados. *In: Memorias de la XI Reunión Científica-Tecnológica, Forestal y Agropecuaria.* INIFAP. Villahermosa, Tabasco. pp. 228-238.

Roberts, D., M. Nachtegaal, y D.L. Sparks. 2005. Speciation of metals in soils. pp. 619-654. *In: M.A. Tabatabai and D.L. Sparks (co-eds.). Chemical processes in soils. Number 8 in the Soil Science Society of America Book Series. SSSA. Madison, Wis. USA.*

Ross, M.S., and J.K. Kaye. 1994. The meaning of metal toxicity in soil-plant systems. pp. 27-61. *In: S.M. Ross (ed.). Toxic metals in soil-plant systems. John Wiley. Chichester, England.*

Ruby, M. V., A. Davis, and A. Nicholson. 1994. In situ formation of lead phosphates in soils as a method to immobilize lead. *Environ. Sci. Technol.* 28:646-654.

Ryan K., P. Zhang., D. Hesterberg., J. Chou., and D. Sayers. 2001. Formation of chloropyromorfita in a lead contaminated-soil amended with hydroxyapatite. *Environ. Sci. Technol.* 35:3798-3803.

Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1994. *Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D.F.*

SAS Institute. 1999. *SAS User's Guide, ver. 8.0 SAS Institute Cary, NC, USA.*

Sauve, S., C.E. Martinez, M. McBride, and W. Hendershot. 2000. Adsorption of free lead (Pb^{2+}) by pedogenic oxides, ferrihydrite, and leaf compost. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:595-599.

Scheckel, K.G., and J.A. Ryan. 2003. In vitro formation of pyromorphite via reaction of Pb sources with soft-drink phosphoric acid. *Science Total Environ.* 302:253-265.

Schulman, D., and W. Chesworth. 2003. Calcium carbonate solubility in the C horizon of a southern Ontario, Canada, luvisol. *Chem. Geol.* 51: 115-122.

Senesi, N. 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals: Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Anal. Chim. Acta.* 232:77-106.

Siebe, Ch. 1994. Acumulación y disponibilidad de metales pesados en suelos regados con aguas residuales en el Distrito de Riego 03, Tula, Hidalgo, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 10:15-21.

Siebe, Ch., and E. Cifuentes. 1995. Environmental impact of wastewater irrigation in Central Mexico.- An overview. *Int. J. Environ. Health Res.* 5:161-173.

Siebe, Ch. 1997. Desarrollo de valores de referencia para Cd y Pb en suelos regados con aguas residuales. *Terra* 15:365-370.

Sparks, D.L. 1999. Soil physical chemistry. 2nd. ed. CRC Press. Boca Raton, FLA, USA.

Sposito, G., L.J. Lund, and A.C. Chang. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am J. 46:260-264.

Sposito, G. 2008. The chemistry of soils. Oxford University Press. 2nd ed. New York, NY, USA.

SRH (Secretaría de Recursos Hidráulicos). 1976. Estudio agrológico complementario del Distrito de Riego 03 de Tula, Hgo. Serie Estudios, Publicación 10. México, D.F.

Stoops, G. 1992. Micromorphology. Part II. International Training Centre for Postgraduate Soil Scientist. Geological Institute, Ghent University, Belgium.

Streit, B., and W. Stumm. 1993. Chemical properties of metals and the process of bioaccumulation in terrestrial plants. pp. 31-62. *In*: B. Markert (ed.). Plants as biomonitors-indicators for heavy metals in the terrestrial environment. VCH. Verlagsgesellschaft. Weinheim, Germany.

Taiz, L., and E. Zeiger. 1991. Plant physiology. Benjamin/Cummings. Redwood City, CA, USA.

Takamatsut, T., and Y. Yoshida. 1978. Determination of stability constants of metal humic acid complexes by potentiometric titration and ion selective electrodes. Soil Sci. 125: 377-386.

Tan, K.H. 1994. Environmental soil science. Marcel Dekker. New York, NY, USA.

Tan, K.H. 1998. Principles of soil chemistry. 3rd ed. Marcel Dekker. New York, NY, USA.

Tanaka, K., S. Fujimaki., T. Fujiwara., T. Yoneyama., and H. Hayashi. 2003. Cadmium concentrations in the phloem sap of rice plants (*Oryza sativa* L.) treated with a nutrient solution containing cadmium. Soil Sci. Plant Nutr. 49:311-313.

Tavera S.,G.G. 1985. Criterios para la interpretación y aprovechamiento de los reportes de laboratorio para las áreas de asistencia técnica. Publicación 3. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Delegación La Laguna. Matamoros, Coahuila.

Taylor, R.W., and D.W. Allinson. 1981. Influence of lead, cadmium and nickel on the growth of *Medicago sativa* (L.). Plant Soil 60:223-236.

Templenton, A.S., P. Trainort, A.M. Spormann, M. New Ville, S.R. Sutton, A. Dohnalkova., Y. Garby, and G.E. Brown. 2003. Sorption versus biomineralization of Pb (II) within Burkdenia cepacia biofilms. *Environ. Sci. Technol.* 37:300-307.

Tessier, A., P.G.C. Campbell, and M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51:844-850.

Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. pp. 475- 490. *In: J.M. Bartels (ed.). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Number 5 in the Soil Science Society of America Book Series. SSSA. ASA. Madison, WI, USA.*

Trudinger, P.A. 1986. Chemistry of sulfur cycle. *In: M. A. Tabatabai (ed.). pp 1-22. Sulfur in Agriculture. Number 27 serie Agronomy. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.*

Uren, N.C. 1992. Forms, reactions, and availability of nickel in soils. *Adv. Agron.* 48:141-203.

Vassilev, A., F.C. Lidon., J.C. Ramalho., M. do C. Matos., and M.G. Boreiro. 2004. Shoot cadmium accumulation and photosynthetic performance of barley plants exposed to high cadmium treatments. *J. Plant Nutr.* 27:775-795.

Vázquez A., A. 1999. Evaluación del riesgo a la contaminación con metales pesados, en la región del Valle del Mezquital, Hgo. Tesis de Doctorado. Instituto de Recursos Naturales. Especialidad de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Vázquez-Alarcón A., L. Cajuste J., Ch. Siebe-Grabach, G. Alcántar-González y Ma. de L. de la Isla de B. 2001. Cadmio, níquel y plomo en agua residual, suelo y cultivos en el valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Agrociencia* 35:267-274.

Voegelin, A., and R. Kretzschmar. 2003. Modelling sorption and mobility of cadmium and zinc in soils with scaled exchange coefficients. *Eur. J. Soil Sci.* 54:387-400.

Wagner, G.J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* 51:173-212.

Walkley, A. 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils. Effect of variation in digestion conditions and inorganic soil constituents. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 63:251-264.

Walter, I., F. Martínez, and V. Cala. 2006. Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environ. Pollut.* 139:507-514.

Waugh, L.D., y W.J. Fitts. 1966. Estudios de interpretación de análisis de suelo: laboratorio y macetas. International Soil Testing. Boletín Técnico No. 3.

Wels, B, and M. Sperling. 2007. Atomic absorption spectrometry. 3rd ed. Wiley-VCH. New York, NY, USA.

Wensel, W.W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted Bioremediation (phytoremediation) of soils. Plant Soil 321:385-408.

Wild, A. 1993. Soils and the environment: An introduction. Cambridge University Press. Cambridge, Great Britain.

Wolf, B. 1999. The fertile triangle: the interrelationship of air, water and nutrients in maximizing soil productivity. The Haworth Press. Binghamton, NY, USA.

Wu Z., Z. Gu, X. Wang, L. Evans, and H. Guo. 2003. Effects of organic acids on adsorption of lead onto montmorillonite, goethite and humic acid. Environ. Pollut. 121:469-475.

Xu, Y., and F.W. Schwartz. 1994. Sorption of Zn^{2+} and Cd^{2+} on hydroxyapatite surfaces. Environ. Sci. Technol. 28:1472-1480.

Yamane, I., and M. Okazak. 1983. Adsorption of heavy metals by soil ingredient. Heavy metals and environment. Environ. Special Study. Tokyo.

Yang, X., V.C. Baligar, D.C. Martens, and R.B. Clark. 1996. Plant tolerance to nickel toxicity: II. Nickel effects on influx and transport of mineral nutrients in four plant species. J. Plant Nutr. 19:265-279.

Yanshan, C., W. Qingreen, and P. Christie. 2004. Effect of elemental sulphur on uptake of cadmium, zinc, and sulphur by oilseed rape growing in soil contaminated with zinc and cadmium. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 35(19-20):2905-2916.

10. APÉNDICE

Cuadro 1A. Coeficientes de correlación Pearson, de algunas propiedades físicas y químicas de trece muestras de suelo colectadas en diferentes sitios en el valle del Mezquital, Hgo.

	Arena	Arcilla	Limo	pH	CE	MO	C. Total	C. Activo	Fósforo	Pb	Cd	Ni	Años riego
Arena	1.00000	-	-	0.20218	0.16867	0.39061	0.24012	-0.53589	0.25770	-0.36479	-0.16350	0.01773	-0.35037
		0.96342**	0.31543	0.5077	0.5818	0.1870	0.4294	0.0591	0.3953	0.2204	0.5935	0.9541	0.2405
		<.0001	0.2938										
Arcilla		1.00000	0.04959	-	-	-	-0.18874	0.37039	-0.25814	0.31054	0.10265	-0.04929	0.37852
			0.8722	0.16098	0.19648	0.34370	0.5369	0.2128	0.3945	0.3018	0.7386	0.8729	0.2022
				0.5993	0.5200	0.2502							
Limo			1.00000	-	0.06712	-	-0.22658	0.68569**	-0.04638	0.25992	0.24587	0.10846	-0.03454
				0.18348	0.8275	0.23874	0.4566	0.0097	0.8804	0.3911	0.4181	0.7243	0.9108
				0.5485		0.4321							
pH				1.00000	0.29272	0.02030	0.34574	0.00852	0.11531	-	-0.42099	-0.21452	-
					0.3318	0.9475	0.2472	0.9779	0.7076	0.73337**	0.1520	0.4816	0.81893**
										0.0043			0.0006
CE					1.00000	-	0.07620	0.16454	0.03338	-0.41799	-0.37065	-0.48668	-0.23572
						0.12656	0.8046	0.5912	0.9138	0.1552	0.2125	0.0917	0.4382
						0.6803							
M.O						1.00000	0.58695*	-0.63015*	0.84464**	0.33987	0.33024	0.21598	0.06540
							0.0350	0.0210	0.0003	0.2559	0.2705	0.4785	0.8319
C. Total							1.00000	-0.19477	0.68152	-0.08611	0.00470	0.05315	-0.45068
								0.5237	0.0103	0.7797	0.9878	0.8631	0.1222
C. Activo								1.00000	-0.34999	0.02245	-0.13389	-0.08190	-0.08681
									0.2411	0.9420	0.6628	0.7903	0.7780
Fósforo									1.00000	0.36660	0.50838	0.37962	-0.06655
										0.2179	0.0761	0.2008	0.8290
Pb										1.00000	0.66714*	0.42737	0.78687**
											0.0127	0.1452	0.0014
Cd											1.00000	0.60038*	0.37269
												0.0300	0.2098
Ni												1.00000	0.12324
													0.6883
Años riego													1.00000

CE= Conductividad eléctrica;

MO= Materia orgánica;

C. Total= Carbonatos totales;

C. Activo= Carbonatos activos

Cuadro 2A. Reacción del suelo (pH) de los suelos incubados con azufre a 38°C durante cinco semanas.

Sitio/Localidad	Tratamiento t S ha ⁻¹	----- Días de incubación-----					Promedio
		7	14	21	28	35	
1 Atitalaquia	0.0	9.1	9.3	9.2	9.2	9.3	9.2
	2.0	8.7	8.4	8.4	8.2	8.4	8.4
	4.0	8.0	8.3	8.1	7.9	7.9	8.0
	6.0	8.4	8.2	8.1	7.9	7.6	8.0
3 Tlaxcoapan	0.0	9.1	9.0	9.1	8.8	8.7	8.9
	2.0	8.5	8.2	8.0	7.7	7.8	8.0
	4.0	8.4	7.7	7.5	7.3	7.3	7.6
	6.0	8.2	7.6	7.4	7.0	6.9	7.4
4 Tlahuelilpan	0.0	8.4	8.3	8.3	8.1	8.0	8.2
	2.0	7.7	7.4	7.4	7.2	7.1	7.4
	4.0	7.5	7.3	7.2	7.2	6.9	7.2
	6.0	7.4	6.9	7.2	6.9	6.7	7.0
13 Tepatepec	0.0	8.6	8.4	8.4	8.2	8.1	8.3
	2.0	7.9	7.6	7.8	7.0	6.8	7.4
	4.0	7.9	7.4	7.0	6.7	6.5	7.1
	6.0	7.4	7.2	6.7	6.2	6.1	6.7

Cuadro 3A. Conductividad eléctrica (dS m⁻¹) de los suelos incubados con azufre a 38°C durante cinco semanas.

Sitio/Localidad	Tratamiento t S ha ⁻¹	----- Días de incubación -----					Promedio
		7	14	21	28	35	
1 Atitalaquia	0.0	0.469	0.413	0.343	0.490	0.251	0.393
	2.0	0.609	0.734	0.637	0.980	0.702	0.732
	4.0	0.891	0.872	0.735	1.225	1.003	0.945
	6.0	1.031	1.147	0.833	1.666	1.605	1.256
3 Tlaxcoapan	0.0	0.562	0.505	0.441	0.735	0.702	0.589
	2.0	1.078	1.147	1.078	1.812	1.504	1.324
	4.0	1.172	1.698	1.421	2.302	2.257	1.770
	6.0	1.359	1.606	1.518	2.694	2.758	1.987
4 Tlahuelilpan	0.0	0.375	0.321	0.196	0.343	0.301	0.307
	2.0	0.844	0.964	0.735	1.372	1.204	1.024
	4.0	1.172	1.468	1.616	2.351	2.006	1.723
	6.0	1.359	1.881	1.665	2.302	2.006	1.843
13 Tepatepec	0.0	0.281	0.275	0.196	0.294	0.251	0.259
	2.0	0.703	0.734	0.490	0.980	1.003	0.782
	4.0	0.703	0.826	0.735	1.274	1.802	1.068
	6.0	0.937	1.055	1.127	1.616	1.906	1.328

Cuadro 4A. Reacción del suelo y conductividad eléctrica promedio, en cuatro suelos incubados con dosis de azufre, durante cinco semanas.

Sitio/Localidad	Tratamiento t S ha ⁻¹	pH	C.E. dS m ⁻¹
1 Atitalaquia	0.0	9.2	0.393
	2.0	8.4	0.732
	4.0	8.0	0.945
	6.0	8.0	1.256
3 Tlaxcoapan	0.0	8.9	0.589
	2.0	8.0	1.324
	4.0	7.6	1.770
	6.0	7.4	1.987
4 Tlahuelilpan	0.0	8.2	0.307
	2.0	7.4	1.024
	4.0	7.2	1.723
	6.0	7.0	1.843
13 Tepatepec	0.0	8.3	0.259
	2.0	7.4	0.782
	4.0	7.1	1.068
	6.0	6.7	1.328

Cuadro 5A. Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.

	Sitio	Azufre	CE1*	CE2	CE3	CE4	CE5
Sitio	1.00000	0.00000 1.0000	-0.27034NS 0.3112	-0.22735NS 0.3971	-0.18143NS 0.5013	-0.20850NS 0.4384	0.00324NS 0.9905
Azufre	0.00000 1.0000	1.00000	0.83230** <.0001	0.80775** 0.0002	0.78870** 0.0003	0.81494** 0.0001	0.86168** <.0001
pH1**	-0.37464 0.1528	-0.65499** 0.0059	-0.54216* 0.0300	-0.54879* 0.0277	-0.57682* 0.0193	-0.53001* 0.0347	-0.56843* 0.0216
pH2	-0.39238 0.1328	-0.69973** 0.0025	-0.64124** 0.0074	-0.69033** 0.0031	-0.68921** 0.0031	-0.66891** 0.0046	-0.73062** 0.0013
pH3	-0.42023 0.1051	-0.74663** 0.0009	-0.63098** 0.0088	-0.65934** 0.0055	-0.68583** 0.0034	-0.67725** 0.0040	-0.77918** 0.0004
pH4	-0.51629* 0.0406	-0.71998** 0.0017	-0.58994* 0.0162	-0.60479* 0.0131	-0.61634* 0.0110	-0.62298** 0.0099	-0.74719** 0.0009
pH5	-0.53034* 0.0346	-0.72616** 0.0014	-0.58345* 0.0177	-0.59670* 0.0147	-0.60525* 0.0130	-0.61491* 0.0112	-0.74266** 0.0010

CE1 – CE5 = Conductividad eléctrica de los suelos incubados en la semana 1 a la semana 5.
pH1 - pH5 = Reacción del suelo de los sitios incubados en la semana 1 a la semana 5.

Cuadro 6A. Reacción del suelo y conductividad eléctrica, en húmedo y en seco, en los sitios 1 y 3, incubados con dosis crecientes de azufre y fósforo.

Sitio/Localidad	Tratamientos		Reacción del suelo (pH)		Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	Húmedo	Seco	Húmedo	Seco
1 Atitalaquia	0	0	9.2	9.1	0.455	0.531
	0	250	8.9	8.8	0.432	0.459
	0	500	8.8	8.5	0.432	0.483
	0	1000	8.3	8.3	0.527	0.483
	0	2000	7.8	7.7	0.527	0.580
	2	0	7.7	8.0	1.918	1.932
	2	250	8.0	8.1	1.055	1.014
	2	500	7.7	7.9	1.199	1.159
	2	1000	6.9	7.1	1.247	1.256
	2	2000	7.1	7.2	1.295	1.352
	4	0	8.0	8.1	1.630	1.449
	4	250	7.8	7.8	1.391	1.449
	4	500	7.4	7.5	1.918	1.690
	4	1000	6.9	7.1	1.678	1.449
	4	2000	6.8	6.7	1.438	1.401
	6	0	7.8	7.9	1.918	2.028
	6	250	7.4	7.7	2.158	1.835
	6	500	7.2	7.2	1.918	2.318
	6	1000	6.7	7.0	2.398	1.932
	3 Tlaxcoapan	0	0	8.7	8.8	0.575
0		250	8.5	8.6	0.623	0.676
0		500	8.3	8.2	0.599	0.652
0		1000	7.9	8.0	0.671	0.628
0		2000	7.0	7.0	0.767	0.821
2		0	7.8	7.8	1.918	1.739
2		250	7.8	7.6	1.918	1.642
2		500	7.3	7.4	1.822	1.690
2		1000	7.1	7.3	1.678	1.739
2		2000	6.6	6.3	1.439	2.173
4		0	7.5	7.5	2.398	2.608
4		250	7.3	7.4	2.637	2.656
4		500	7.2	7.0	2.398	2.656
4		1000	6.6	6.8	2.398	2.173
4		2000	6.4	6.3	2.158	2.415
6		0	7.2	7.2	2.398	2.898
6		250	7.0	7.2	2.877	3.477
6		500	7.0	6.8	2.637	3.139
6		1000	6.6	6.6	2.541	2.898
6		2000	6.2	5.9	2.398	3.091

Cuadro 7A. Reacción del suelo y conductividad eléctrica, en húmedo y en seco, en los sitios 4 y 13, incubados con dosis crecientes de azufre y fósforo.

Sitio/Localidad	Tratamientos		Reacción del suelo (pH)		Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	Húmedo	Seco	Húmedo	Seco
4 Tlahuelilpan	0	0	8.3	8.5	0.376	0.384
	0	250	8.2	8.4	0.351	0.336
	0	500	8.0	8.1	0.401	0.384
	0	1000	7.4	7.6	0.401	0.398
	0	2000	6.9	7.3	0.501	0.456
	2	0	7.7	7.6	1.504	1.678
	2	250	7.5	7.7	1.103	1.199
	2	500	7.3	7.5	1.204	1.199
	2	1000	6.8	6.8	1.254	1.438
	2	2000	6.2	6.4	1.404	1.391
	4	0	7.3	7.3	2.006	2.398
	4	250	7.1	7.3	2.006	2.158
	4	500	7.1	7.2	1.755	2.158
	4	1000	6.4	7.0	2.508	1.918
	4	2000	6.0	6.3	2.508	1.918
	6	0	7.1	7.2	2.508	2.494
	6	250	7.0	7.1	2.006	2.398
	6	500	6.9	7.2	2.156	2.398
	6	1000	6.2	6.9	2.508	2.398
	6	2000	5.8	6.2	2.508	2.398
13 Tepatepec	0	0	8.2	8.5	0.401	0.288
	0	250	7.9	8.1	0.351	0.336
	0	500	7.4	7.5	0.326	0.360
	0	1000	6.9	6.8	0.401	0.432
	0	2000	6.0	6.0	0.552	0.527
	2	0	6.8	7.2	1.504	1.199
	2	250	6.7	6.8	1.304	1.247
	2	500	6.6	6.9	1.254	1.199
	2	1000	6.2	6.6	1.153	1.007
	2	2000	5.7	6.3	1.354	1.079
	4	0	6.3	6.7	2.257	1.678
	4	250	6.4	6.5	1.605	1.918
	4	500	6.0	6.6	2.156	1.438
	4	1000	6.0	5.9	1.504	2.028
	4	2000	5.8	5.8	1.705	1.690
	6	0	6.2	5.6	2.006	2.415
	6	250	5.5	5.4	2.257	2.511
	6	500	5.7	5.8	2.508	2.028
	6	1000	5.5	5.1	2.257	2.028
	6	2000	4.6	5.2	2.508	2.415

Cuadro 8A. Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.

	Sitio	Azufre	Fósforo	pH húmedo	pH seco	CE húmedo	CE seco
Sitio	1.00000	0.00000 1.0000	0.00000 1.0000	-0.54165** <.0001	-0.52174** <.0001	-0.04237 0.7090	-0.08997 0.4274
Azufre		1.00000	0.00000 1.0000	-0.57715** <.0001	-0.58217** <.0001	0.90840** <.0001	0.88491** <.0001
Fósforo			1.00000	-0.52268** <.0001	-0.52345** <.0001	0.00632 0.9556	-0.02061 0.8560
pH húmedo				1.00000	0.96480** <.0001	-0.57330** <.0001	-0.49780** <.0001
pH seco					1.00000	-0.55943** <.0001	-0.53786** <.0001
CE húmedo						1.00000	0.93397** <.0001
CE seco							1.00000

Cuadro 9A. Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Pb con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.

	Sitio	Azufre	Fósforo	Pb-sol (FI)	Pb-int. (FII)	Pb-carb (FIII)	Pb-ox (FIV)	Pb-mo (FV)	Pb-res (FVI)	Pb-tot
Sitio	1.000	0.000 1.000	0.000 1.000	0.057 0.777	0.467* 0.014	0.135 0.501	0.057 0.777	-0.073 0.718	0.416* 0.031	0.204 0.305
Azufre		1.000	0.500** 0.008	-0.082 0.683	0.537* 0.004	0.043 0.830	-0.095 0.636	-0.277 0.162	0.193 0.335	0.007 0.973
Fósforo			1.000	0.269 0.174	0.473* 0.013	-0.510** 0.007	-0.030 0.880	-0.348 0.075	0.315 0.110	0.008 0.968
Pb-sol (FI)				1.000	0.116 0.564	-0.363 0.063	-0.119 0.556	-0.340 0.083	-0.163 0.415	-0.158 0.430
Pb-int. (FII)					1.000	-0.272 0.170	0.047 0.815	-0.314 0.111	0.288 0.145	0.114 0.570
Pb-carb (FIII)						1.000	0.486** 0.010	0.676** 0.001	0.371 0.057	0.569** 0.002
Pb-ox (FIV)							1.000	0.883** <.0001	0.791** <.0001	0.975** <.0001
Pb-mo (FV)								1.000	0.593** 0.0001	0.857** <.0001
Pb-res (FVI)									1.000	0.884** <.0001
Pb-tot										1.000

Pb-sol= Plomo soluble. Pb-int= Plomo intercambiable.
Pb-ox= Plomo ligado a los óxidos de Fe-Mn.
Pb-res= Plomo residual.

Pb-carb= Plomo ligado a carbonatos.
Pb-mo= Plomo ligado a la materia orgánica.
Pb-tot= Plomo total.

Cuadro 10A. Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Cd con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.

	Sitio	Azufre	Fósforo	Cd-sol (FI)	Cd-int. (FII)	Cd-carb (FIII)	Cd-ox (FIV)	Cd-mo (FV)	Cd-res (FVI)	Cd-tot
Sitio	1.000	0.000 1.000	0.000 1.000	0.492** 0.009	0.232 0.243	-0.332 0.091	-0.237 0.233	-0.017 0.934	0.472* 0.013	0.179 0.373
Azufre		1.000	0.500** 0.008	0.019 0.925	0.196 0.327	-0.057 0.777	-0.038 0.850	-0.013 0.950	-0.083 0.682	-0.009 0.963
Fósforo			1.000	0.421* 0.029	0.095 0.638	-0.180 0.368	-0.012 0.953	-0.082 0.683	0.096 0.635	0.042 0.834
Cd-sol (FI)				1.000	0.073 0.718	-0.266 0.180	-0.105 0.602	-0.210 0.294	0.298 0.132	0.100 0.619
Cd-int. (FII)					1.000	0.749** <.0001	0.712** <.0001	0.855** <.0001	0.518** 0.006	0.896** <.0001
Cd-carb (FIII)						1.000	0.895** <.0001	0.808** <.0001	0.212 0.273	0.763** <.0001
Cd-ox (FIV)							1.000	0.827** <.0001	0.292 0.140	0.806** <.0001
Cd-mo (FV)								1.000	0.384* 0.048	0.850** <.0001
Cd-res (FVI)									1.000	0.750** <.0001
Cd-tot										1.000

Cd-sol= Cadmio soluble. Cd-int= Cadmio intercambiable. Cd-carb= Cadmio ligado a carbonatos.
 Cd-ox= Cadmio ligado a los óxidos de Fe-Mn. Cd-mo= Cadmio ligado a la materia orgánica.
 Cd-res=Cadmio residual. Cd-tot= Cadmio total.

Cuadro 11A. Análisis de correlación Pearson, entre las fracciones de Ni con los sitios y los tratamientos de azufre y fósforo aplicados.

	Sitio	Azufre	Fósforo	Ni-sol (FI)	Ni-int (FII)	Ni-carb (FIII)	Ni-ox (FIV)	Ni-mo (FV)	Ni-res (FVI)	Ni-tot
Sitio	1.000	0.000 1.000	0.000 1.000	0.764** <.0001	0.606** 0.0008	-0.044 0.829	0.087 0.667	-0.001 0.997	0.868** <.0001	0.769** <.0001
Azufre		1.000	0.500** 0.008	0.407* 0.035	0.483* 0.011	-0.011 0.958	-0.157 0.433	0.040 0.844	-0.020 0.921	0.004 0.985
Fósforo			1.000	0.403* 0.037	0.362 0.063	-0.074 0.712	-0.193 0.335	0.410 0.841	-0.015 0.942	-0.003 0.999
Ni-sol (FI)				1.000	0.766** <.0001	0.124 0.537	0.136 0.500	0.207 0.300	0.742** <.0001	0.715** <.0001
Ni-int (FII)					1.000	0.288 0.146	0.377 0.052	0.452* 0.018	0.683** <.0001	0.723** <.0001
Ni-carb (FIII)						1.000	0.928** <.0001	0.942** <.0001	0.323 0.100	0.519** 0.005
Ni-ox (FIV)							1.000	0.956** <.0001	0.437* 0.023	0.621** 0.0005
Ni-mo (FV)								1.000	0.374 0.055	0.576** 0.001
Ni-res (FVI)									1.000	0.973** <.0001
Ni-tot										1.000

Ni-sol= Níquel soluble. Ni-int= Níquel intercambiable.
 Ni-ox= Níquel ligado a los óxidos de Fe-Mn.
 Ni-res=Níquel residual.

Ni-carb= Níquel ligado a carbonatos.
 Ni-mo= Níquel ligado a la materia orgánica.
 Ni-tot= Níquel total.

Cuadro 12A. Reacción del suelo y conductividad eléctrica de tres sitios, dos y cuatro semanas después de la aplicación de azufre.

Sitio/Localidad	Reacción del suelo (pH)		Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	
	2 ^a . semana	4 ^a . semana	2 ^a . semana	4 ^a . semana
1 Atitalaquia	8.8	8.0	0.562	0.969
4 Tlahuelilpan	8.0	7.2	1.344	1.234
13 Tepatepec	7.2	6.2	0.844	0.828

Cuadro 13A. Reacción del suelo y conductividad eléctrica de tres suelos, dos semanas después de la aplicación de los tratamientos con fósforo.

Sitio/Localidad	Tratamientos		Reacción del suelo (pH)	Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)		
1 Atitalaquia	0	0	8.7	0.609
	0	1000	6.8	0.844
	0	2000	6.0	0.844
	2	0	7.7	1.875
	2	1000	6.2	2.226
	2	2000	5.5	1.875
4 Tlahuelilpan	0	0	8.0	1.148
	0	1000	6.2	1.196
	0	2000	5.3	1.289
	2	0	7.2	2.179
	2	1000	5.6	2.343
	2	2000	5.3	2.343
13 Tepatepec	0	0	7.7	0.340
	0	1000	6.2	0.469
	0	2000	5.4	0.610
	2	0	5.7	1.758
	2	1000	5.2	1.758
	2	2000	5.0	1.874

Cuadro 14A. Rendimiento de materia seca (g), concentración de fósforo extractable (mg kg⁻¹) en los suelos, contenido de plomo, cadmio y níquel (mg kg⁻¹) en tejido de maíz, en condiciones de invernadero.

Sitio/Localidad	----- Tratamientos -----		Rendimiento Mat. seca (g)	P-suelo mg kg ⁻¹	Pb	Cd	Ni
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)					
1 Atitalaquia	0	0	2.410	128	21.7	4.8	17.8
	0	1000	3.133	1362	22.3	5.6	20.4
	0	2000	3.923	1476	26.8	5.8	16.2
	2	0	2.487	109	24.7	4.2	14.3
	2	1000	3.310	1105	27.2	4.5	16.9
	2	2000	3.503	1122	26.7	4.7	19.2
4 Tlahuelilpan	0	0	2.630	173	27.9	4.0	20.8
	0	1000	3.967	811	18.3	2.5	11.4
	0	2000	3.693	906	22.4	3.5	13.0
	2	0	3.333	158	19.1	4.6	12.3
	2	1000	3.447	881	14.7	2.6	13.0
	2	2000	4.287	1122	19.1	4.4	20.9
13 Tepatepec	0	0	4.340	125	18.7	5.2	21.7
	0	1000	4.097	368	27.6	3.4	16.5
	0	2000	4.790	588	26.9	5.1	17.3
	2	0	3.993	159	26.7	4.3	17.2
	2	1000	4.887	351	26.0	5.4	13.6
	2	2000	4.687	466	19.6	5.6	12.0

Cuadro 15A. Análisis de correlación Pearson, entre algunas variables en estudio.

	S	P	Rendimiento total	Pb	Cd	Ni	P extractable
S	1.00000	0.00000	0.05950	-0.02441	0.06769	-0.14282	-0.05590
		1.00000	0.6691	0.8609	0.6267	0.3029	0.6880
P		1.00000	0.43647**	0.04271	0.11789	-0.10369	0.71346**
			0.0010	0.7591	0.3959	0.4556	<.0001
Rendimiento total			1.00000	-0.07121	0.12727	-0.15927	0.06997
				0.6089	0.3591	0.2500	0.6152
Pb				1.00000	0.05323	0.13052	0.03969
					0.7023	0.3468	0.7757
Cd					1.00000	0.22830	0.10918
						0.0968	0.4319
Ni						1.00000	0.14137
							0.3079
P extractable							1.00000

Cuadro 16A. Rendimiento total de materia seca de alfalfa (g) y en diferentes cortes, y contenido de fósforo extractable (mg kg⁻¹) en los suelos cultivados con alfalfa.

Sitio/ Localidad	----- Tratamientos -----		Corte 1	2	3	4	Rend. total	P-suelo mg kg ⁻¹
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)						
1 Atitalaquia	0	0	0.650	1.216	1.110	0.480	3.456	95
	0	1000	0.863	1.485	1.240	0.793	4.381	1127
	0	2000	0.920	1.526	1.403	0.863	4.712	1411
	2	0	0.750	1.199	1.210	0.710	3.869	109
	2	1000	0.933	1.917	1.403	0.890	5.143	1261
4 Tlahuelilpan	2	2000	0.723	1.686	1.280	0.823	4.512	1301
	0	0	1.003	2.421	1.863	1.237	6.524	124
	0	1000	0.793	2.109	1.980	1.370	6.252	859
	0	2000	0.573	2.199	1.740	1.337	5.849	1178
	2	0	1.403	2.735	1.990	1.437	7.565	191
13 Tepatepec	2	1000	0.733	2.557	1.960	1.367	6.617	791
	2	2000	1.263	2.356	1.813	1.393	6.825	1067
	0	0	0.740	1.756	1.677	1.150	5.323	117
	0	1000	0.510	1.199	1.253	0.867	3.829	457
	0	2000	0.337	1.004	0.753	0.697	2.791	588
	2	0	0.660	1.517	1.443	0.957	4.577	165
	2	1000	0.380	1.232	1.143	0.873	3.628	529
	2	2000	0.313	0.905	0.903	0.783	2.904	705

Cuadro 17A. Concentración de plomo en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.

Sitio/ Localidad	----- Tratamientos -----		Corte 1	2	3	4
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)				
1 Atitalaquia	0	0	31.2	22.5	14.2	22.8
	0	1000	14.0	25.3	17.5	18.3
	0	2000	41.8	16.3	22.0	10.8
	2	0	36.2	25.5	18.3	5.0
	2	1000	26.5	29.8	22.5	12.2
4 Tlahuelilpan	2	2000	34.2	31.7	17.7	19.0
	0	0	38.0	20.2	18.5	16.2
	0	1000	30.0	35.3	22.0	10.5
	0	2000	8.7	16.3	17.8	12.3
	2	0	14.0	28.7	13.7	17.3
13 Tepatepec	2	1000	13.0	18.3	21.5	14.3
	2	2000	16.8	35.2	17.8	13.2
	0	0	24.5	32.0	23.0	26.5
	0	1000	11.2	18.2	22.0	18.8
	0	2000	18.5	21.7	25.5	18.2
	2	0	32.7	13.0	26.5	20.2
	2	1000	10.0	22.2	24.0	17.2
	2	2000	19.3	26.7	26.7	16.8

Cuadro 18A. Concentración de cadmio en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.

Sitio/ Localidad	----- Tratamientos -----		Corte 1	2	3	4
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)				
1 Atitalaquia	0	0	4.0	2.5	1.5	3.0
	0	1000	4.0	2.5	1.5	4.2
	0	2000	5.2	2.5	1.8	3.7
	2	0	4.8	3.0	2.2	3.2
	2	1000	5.0	3.3	2.5	3.7
	2	2000	6.2	3.5	2.5	4.2
4 Tlahuelilpan	0	0	6.3	4.7	2.5	3.5
	0	1000	5.2	5.7	1.2	3.3
	0	2000	5.0	6.2	1.7	3.3
	2	0	4.5	6.5	1.3	3.8
	2	1000	7.0	6.2	1.7	3.7
	2	2000	6.0	6.2	2.0	4.2
13 Tepatepec	0	0	6.5	5.5	2.5	3.7
	0	1000	7.2	6.0	2.3	4.0
	0	2000	7.8	7.7	2.3	4.2
	2	0	3.3	7.3	3.0	4.3
	2	1000	7.2	7.5	3.3	5.0
	2	2000	7.8	7.8	3.2	5.7

Cuadro 19A. Concentración de níquel en el tejido de alfalfa, en cada uno de los cuatro cortes.

Sitio/ Localidad	----- Tratamientos -----		Corte 1	2	3	4
	S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)				
1 Atitalaquia	0	0	14.2	25.3	10.3	6.0
	0	1000	10.9	25.7	7.8	5.2
	0	2000	10.7	23.0	9.5	4.7
	2	0	11.8	20.3	8.3	4.5
	2	1000	10.0	26.8	7.7	8.3
	2	2000	9.3	25.5	10.7	9.8
4 Tlahuelilpan	0	0	4.0	24.8	8.2	8.2
	0	1000	5.8	11.2	9.8	9.0
	0	2000	12.4	14.0	10.5	9.2
	2	0	11.4	16.0	10.3	9.8
	2	1000	13.8	14.5	10.3	12.7
	2	2000	12.3	18.2	11.0	10.8
13 Tepatepec	0	0	13.3	15.0	12.5	9.8
	0	1000	17.2	14.5	13.0	10.8
	0	2000	18.7	19.2	12.7	11.8
	2	0	14.3	25.8	13.7	9.2
	2	1000	18.8	22.3	17.8	11.8
	2	2000	17.7	23.5	16.2	10.5

Cuadro 20A. Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de plomo y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.

	S	P	Rend. 1	Rend. 2	Rend. 3	Rend. 4	Rend. total	P-extr	Pb1	Pb2	Pb3	Pb4
S	1.00000	0.00000	0.1319	0.1116	0.0177	0.0788	0.0960	0.0197	-0.0766	0.1735	0.0743	-0.2047
P		1.00000	0.3419	0.4216	0.8985	0.5714	0.4898	0.8873	0.5822	0.2095	0.5934	0.1376
Rend. 1			1.00000	0.6549**	0.5622**	0.4748**	0.7429**	0.0501	0.1362	0.2931*	-0.4374**	-0.1241
Rend. 2				1.00000	0.8995**	0.8133**	0.9700**	0.1049	-0.0819	0.1635	-0.2947*	-0.1670
Rend. 3					1.00000	0.8171**	0.9374**	0.0026	0.0132	0.1885	0.2891*	-0.1888
Rend. 4						1.00000	0.8711**	0.0749	-0.2459	0.1494	-0.0779	-0.1058
Rend. total							1.00000	0.0697	-0.0510	0.2152	-0.3129*	-0.1696
P-extr								1.00000	-0.0778	0.1257	0.0334	-0.3393*
Pb1									1.00000	0.0186	-0.0645	-0.1391
Pb2										1.00000	-0.1884	-0.0561
Pb3											1.00000	0.0807
Pb4												1.00000

Rend. total= Rendimiento total. P-extr= Fósforo extractable del suelo.
 Pb2= Concentración de plomo en alfalfa en el segundo corte.
 Pb4= Concentración de plomo en alfalfa en el cuarto corte.

Pb1= Concentración de plomo en alfalfa en el primer corte.
 Pb3= Concentración de plomo en alfalfa en el tercer corte.

Cuadro 21A. Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de cadmio y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.

	S	P	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	Rend. total	P-extr	Cd1	Cd2	Cd3	Cd4
S	1.00000	0.00000	0.1319	0.1116	0.0177	0.0788	0.0960	0.0197	0.0241	0.2291	0.3469*	0.3641**
P		1.00000	0.3419	0.4216	0.8985	0.5714	0.4898	0.8873	0.8626	0.0957	0.0102	0.0068
Corte 1			1.00000	0.6549**	0.5622**	0.4748**	0.7429**	0.0501	-0.3596**	-0.2826*	-0.3635**	-0.2961*
Corte 2				1.00000	0.8995**	0.8133**	0.9700**	0.1049	-0.1864	0.0233	-0.3640**	-0.2882*
Corte 3					1.00000	0.8171**	0.9374**	0.0026	-0.1921	0.0333	-0.3486**	-0.3371*
Corte 4						1.00000	0.8711**	0.0749	-0.0217	0.2853*	-0.2854*	-0.1163
Rend. total							1.00000	0.0697	0.2129	0.0164	-0.3846**	-0.2999*
P-extr								1.00000	0.1221	0.9065	0.0041	0.0276
Cd1									1.00000	0.3927**	0.2998*	0.4088**
Cd2										1.00000	0.3065*	0.4262**
Cd3											1.00000	0.5156**
Cd4												1.00000

Rend. total= Rendimiento total. P-extr= Fósforo extractable del suelo.
 Cd2= Concentración de cadmio en alfalfa en el segundo corte.
 Cd4= Concentración de cadmio en alfalfa en el cuarto corte.

Cd1= Concentración de cadmio en alfalfa en el primer corte.
 Cd3= Concentración de cadmio en alfalfa en el tercer corte.

Cuadro 22A. Análisis de correlación Pearson, entre la concentración de níquel y algunas variables de respuesta en el cultivo de alfalfa.

	S	P	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	Rend. total	P-extr	Ni1	Ni2	Ni3	Ni4
S	1.00000	0.00000	0.1319	0.1116	0.0177	0.0788	0.0960	0.0197	0.1624	0.2065	0.2201	0.2692*
P		1.00000	0.3419	0.4216	0.8985	0.5714	0.4898	0.8873	0.2406	0.1341	0.1097	0.0490
Corte 1			1.00000	0.6549**	0.5622**	0.4748**	0.7429**	0.0501	-0.4570**	-0.0375	-0.5426**	-0.1964
Corte 2				1.00000	0.8995**	0.8133**	0.9700**	0.1049	-0.5266**	-0.3172*	-0.3785**	0.1952
Corte 3					1.00000	0.8171**	0.9374**	0.0026	-0.5351**	-0.4149**	-0.3277*	0.1243
Corte 4						1.00000	0.8711**	0.0749	-0.3336*	-0.5588**	-0.1203	0.3315*
Rend. total							1.00000	0.0697	-0.5327**	-0.3694**	-0.3896**	0.1398
P-extr								1.00000	-0.1839	0.0763	-0.1946	-0.0293
Ni1									1.00000	-0.0346	0.6406**	0.3767**
Ni2										1.00000	-0.0810	-0.3169*
Ni3											1.00000	0.5330*
Ni4												1.00000

Rend. total= Rendimiento total. P-extr= Fósforo extractable del suelo.
 Ni2= Concentración de níquel en alfalfa en el segundo corte.
 Ni4= Concentración de níquel en alfalfa en el cuarto corte.

Ni1= Concentración de níquel en alfalfa en el primer corte.
 Ni3= Concentración de níquel en alfalfa en el tercer corte.

Cuadro 23A. Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 1 después de la aplicación de azufre y fósforo.

Sitio	(pH)*	Tratamientos		Mineral	Fórmula	
		S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)			
1 Atitalaquia	9.1	0	0	Pirolusita	MnO ₂	
				Calcita	CaCO ₃	
				Silvita	KCl	
					Plomo	Pb
					Cuarzo	SiO ₂
					Grossita	CaAl ₄ O ₇
					Miersita	(Ag,Cu)I
					Bassanita	CaSO ₄ ·0.5H ₂ O
		8.5	0	500	Sin nombre	Rb ₂ Cd[(Ni, Cd)NO ₂] ₆
	Galena				PbS	
	Telurio				Te	
	Cristobalita				SiO ₂	
				Nontronita	Na _{0,3} Fe ₃₊₂ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂ ·nH ₂ O	
	8.0	2	0	Yeso	CaSO ₄ ·2H ₂ O	
Calcita				CaCO ₃		
Clausthalita				PbSe		
Pilsenita				Bi ₄ Te ₃		
Thomsenolita				NaCaAlF ₆ ·H ₂ O		
Gladita				PbCuBi ₅ S ₉		
Anhidrita				CaSO ₄		
Stishovita				SiO ₂		
	7.1	2	1000	Ferrosilita magnésica	Fe(SiO ₃)	
Troleita				Al ₄ (PO ₄) ₃ (OH) ₃		
Rusakovita				(Fe,Al) ₅ (VO ₄ ,PO ₄) ₂ (OH) ₉ ·3H ₂ O		
Megaciclita				K ₂ Na ₁₆ [Si ₁₈ O ₃₆ (OH) ₁₈]·32H ₂ O		
Ankangita				Ba(Ti, V ₃₊ , Cr ₃₊) ₈ O ₁₆		

*Determinado en seco

Cuadro 24A. Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 4 después de la aplicación de azufre y fósforo.

Sitio	(pH)*	Tratamiento		Mineral	Fórmula
		S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)		
4 Tlahuelilpan	8.5	0	0	Enstatita	MgSiO ₃
				Bunsenita	NiO
				Anortita	CaAl ₂ Si ₂ O ₈
				Rambergita	MnS
	8.1	0	500	Gustavita	PbAgBi ₃ S ₆
				Bustamita	Mn(, Ca) ₃ Si ₃ O ₉
				Baratovita	KCa ₇ (Ti, Zr) ₂ Li ₃ Si ₁₂ O ₃₆ F ₂
				Albita	NaAlSi ₃ O ₈
				Anortita	CaAl ₂ Si ₂ O ₈
				Miersita	(Ag,Cu)I
				Alamosita	Pb(SiO ₃)
				Sanidina	(K, Na)(Si, Al) ₄ O ₈
	7.6	2	0	Albita	NaAlSi ₃ O ₈
				Cebaita	Ba ₃ Ce ₂ (CO ₃) ₅ F ₂
				Anortita	CaAl ₂ Si ₂ O ₈
				Dufrenoisita	Pb ₂ As ₂ S ₅
	6.8	2	1000	Linarita	PbCu(SO ₄)(OH) ₂
				Forsterita	Mg ₂ SiO ₂
				Anortita	CaAl ₂ Si ₂ O ₈
				Guyanaita	CrO(OH)
				Wurtzita	[(Zn, Fe)S]

*Determinado en seco

Cuadro 25A. Minerales identificados mediante difracción de rayos x, en el suelo del sitio 13 después de la aplicación de azufre y fósforo.

Sitio	(pH)*	Tratamiento		Mineral	Fórmula
		S (t ha ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)		
13 Tepatepec	8.5	0	0	Sanidina	(K, Na)(Si, Al) ₄ O ₈
				Nonalvita	NaAlSi ₃ O ₈
				Albita	NaAlSi ₃ O ₈
				Andesina	NaCa[(Al, Si)AlSi ₂ O ₈]
				Ortoclasa	KAlSi ₃ O ₈
				Alamosita	PbSiO ₃
	7.5	0	500	Weibulita	Pb ₅ Bi ₈ Se ₇ S ₁₁
				Albita	NaAlSi ₃ O ₈
				Dumontita	Pb ₂ (VO ₂) ₃ (PO ₄) ₂ (OH) ₄ .3 H ₂ O
	7.2	2	0	Gismondina	CaAl ₂ Si ₂ O ₈ .4H ₂ O
				Litarga	PbO
				Gladita	PbCuBi ₅ S ₉
				Haycockita	Cu ₄ Fe ₅ S ₈
				Weibulita	Pb ₅ Bi ₈ Se ₇ S ₁₁
				Anortita	CaAl ₂ Si ₂ O ₈
	6.6	2	1000	Micropertita	KNaAlSi ₃ O ₈
				Ortoclasa	KAlSi ₃ O ₈
				Altaita	PbTe
				Crocoita	PbCrO ₄
				Lazulita	(Mg, Fe)Al ₂ (PO ₄) ₂ (OH) ₂
				Larsenita	PbZnSiO ₄

*Determinado en seco