



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La tierra no es de nosotros, nosotros somos de la tierra”

**MEZQUITE (*Prosopis laevigata*) COMO
ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE
SUELOS CONTAMINADOS POR COBRE**

TESIS

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

MAYRA LÓPEZ FUENTES

Asesor de tesis:

Dr. José Antonio Munive Hernández

Noviembre 2017



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La tierra no es de nosotros, nosotros somos de la tierra”

MEZQUITE (*Prosopis laevigata*) COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR COBRE

TESIS

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

MAYRA LÓPEZ FUENTES

Comité tutorial:

Asesor y Tutor	Dr. José Antonio Munive Hernández
Integrante Comité Tutorial	Dr. Ricardo Pérez Avilés
Integrante Comité Tutorial	Dra. Edith Chávez Bravo
Integrante Comité Tutorial	Dra. Alia Méndez Albores
Integrante Comité Tutorial	Dr. Jesús Armando Ruiz Careaga

Noviembre 2017



BUAP

C. MAYRA LÓPEZ FUENTES

Por este conducto me permito comunicarle que los miembros del jurado integrado por:

<i>Dr. J Santos Hernández Zepeda</i>	<i>Presidente</i>
<i>Dr. Eduardo Torres Ramírez</i>	<i>Secretario</i>
<i>Dr. Fernando Utrera Quintana</i>	<i>1er. Vocal</i>
<i>Dra. Elsa Iracena Castañeda Roldán</i>	<i>2do. Vocal</i>
<i>Dr. Jesús Armando Ruiz Careaga</i>	<i>Suplente</i>

designado para la defensa de su tesis "*Mezquite (Prosopis laevigata) como alternativa para la recuperación de suelos contaminados por cobre*" han manifestado mediante su voto que ésta cumple con los méritos suficientes para ser defendida como tesis de grado de Maestría en Ciencias Ambientales, por lo que este Posgrado le autoriza la impresión de la misma.

Sin otro asunto en lo particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"

H. PUEBLA DE Z., NOVIEMBRE 21 DE 2017

DR. RICARDO DARÍO PEÑA MORENO
SECRETARIO ACADÉMICO



RDPM/anma
c.c.p. Archivo
c.c.p. Minutario

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante el transcurso del posgrado.

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. José Antonio Munive Hernández por su apoyo y confianza, y a todos aquellos que me apoyaron para culminar esta etapa de mi vida.

Gracias

INDICE

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. JUSTIFICACIÓN	3
III. MARCO TEÓRICO	4
3.1. Antecedentes	4
3.2. Características botánicas y ecológicas de las especies las fabáceas o leguminosas	6
3.3 <i>Prosopis</i>	6
3.4. El suelo	9
3.5 Metales pesados	9
3.6. Cobre	10
3.7 Fitorremediación	11
3.8 Germinación de semillas	12
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	12
4.1 Pregunta de Investigación	12
V. HIPÓTESIS	13
5.1 Hipótesis general	13
VI. OBJETIVOS	13
6.1 Objetivo general	13
6.2. Objetivo específico	13
VII. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	14
7.1. Localización del objeto de estudio	15
7.2 Fase de campo	16

7.3 Fase de laboratorio	17
7.3.1 Análisis de la cantidad de metales en raíz, tallo y hoja de la muestra <i>P. laevigata</i>	17
7.3.2 Escarificación y germinación de <i>Prosopis laevigata</i>	17
7.4 VARIABLES RESPUESTA	18
7.4.1 Evaluación de parámetros de germinación de <i>Prosopis</i> en presencia estrés de Cu	18
7.4.1.1. Estima el porcentaje de germinación	18
7.4.1.2. Longitud de tallo (cm), longitud de la raíz (cm)	18
7.4.1.3. Peso fresco de las plántulas (g) y peso seco de las plántulas (g)	18
7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
8.1 Análisis de la cantidad de metales en muestras de suelo	19
8.2 Análisis de la cantidad de metales en raíz, tallo y hoja de la muestra <i>P. laevigata</i>	21
8.3 Análisis de rasgos de tolerancia al estrés	24
8.3.1 Análisis de la capacidad de germinación de <i>Prosopis</i> bajo estrés producido por cobre	24
8.3.2 Análisis de longitud de tallo y raíz	27
8.3.2.1 Análisis de longitud de tallo	27
8.3.2 Análisis de longitud de raíz	30
8.4 Peso fresco (g)	34
8.5 Peso seco (g)	36
IX. CONCLUSIÓN	41
XI. LITERATURA CITADA	42

INDICE DE FIGURAS y TABLAS

Figura 1. Distribución de los mezquites (<i>Prosopis</i> spp.) en el mundo y distribución geográfica y usos del mezquite	7
Figura 2. Interrelación sustentable para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados	11
Figura 3. Localización del Municipio de Chietla, Puebla, 2010	15
Figura 4. Localización del lugar y sitio muestra en la región de Chietla, Puebla	16
Figura 5. Zona de recolección de muestras	16
Figura 6. Identificación de la presencia de metales en suelo por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla	19
Figura 7. Identificación de la presencia de metales en hoja por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla	21
Figura 8. Identificación de la presencia de metales en raíz por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla	22
Figura 9. Identificación de la presencia de Cu en tallo por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla	23
Figura 10. Desarrollo de la germinación de <i>Prosopis laevigata</i> en diferentes concentraciones de Cu <i>in vitro</i>	25
Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Prosopis laevigata</i> en diferentes tratamientos bajo condiciones controladas en laboratorio	26
Figura 12. Morfología del crecimiento de las plántulas estresadas con cobre después de 6 días de tratamiento	27

Figura 13. Crecimiento de tallos de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas	28
Figura 14. Diagrama de caja y bigote entre los promedios de la longitud de tallos de <i>Prosopis Laevigata</i>	29
Figura 15. Gráfica de barras del crecimiento de raíz de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas	31
Figura 16. Diagrama de caja y bigote entre los promedios de la longitud de raíz de <i>Prosopis laevigata</i> en condiciones controladas	31
Figura 17. Crecimiento de la primera hoja en plantula de <i>Prosopis laevigata</i> en condiciones controladas	33
Figura 18. Crecimiento de peso fresco de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas.	35
Figura 19. Morfología de la planta de <i>Prosopis laevigata</i> sometida a deshidratación después de haber sido sometida a estrés de Cu	37
Figura 20. Crecimiento de peso seco de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas	38
Tabla 1. Concentración de metales en ppm del suelo mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla	20
Tabla 2. Concentraciones de metales en ppm en hoja mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla.	22
Tabla 3. Concentración de metales en ppm de raíz mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla	23

Tabla 4. Concentración de Cu en ppm del tallo identificado mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla	24
Tabla 5. Porcentaje de germinación en diferentes concentraciones de Cu	25
Tabla 6. Índice de correlación de Pearson. Los coeficientes de correlación altamente significativos se muestran en negrita (Pearson, $p \leq 0.01$)	26
Tabla 7. Longitudes (cm) obtenidas de la tallo durante el crecimiento de la plántula en condiciones controladas a partir del primer día de germinación	28
Tabla 8. Análisis de varianza de los datos de tallo. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos	29
Tabla 9. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formacion de cuatrogrupos a,b,c,y d	30
Tabla 10. Longitudes obtenidas de la raíz durante el crecimiento de la plántula en condiciones controladas a partir de tercer día de germinación	30
Tabla 11. Análisis de varianza de los datos de raíz. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos	32
Tabla 12. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formacion de dos grupos a y b	33
Tabla 13. Peso fresco (g) de los diferentes tratamientos de <i>Prosopis Laevigata</i> estresadas bajo diferentes concentraciones de Cu en condiciones controladas al final del experimento	34

Tabla 14. Análisis de varianza de los datos de peso fresco. El p es mayor que 0.05, se concluye que no existen diferencias significativas entre los tratamientos	36
Tabla 15. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formacion de un solo grupo	36
Tabla 16. Datos obtenidos de pesos secos de <i>Prosopis laevigata</i> después de haber sido deshidratados	37
Tabla 17. Análisis de varianza de los datos de raíz. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos	38
Tabla 18. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formacion de un solo grupo	39

RESUMEN

El objetivo de este estudio es evaluar el potencial de germinación de semillas de *Prosopis laevigata* (Mezquite), sometidas a estrés por cobre (Cu). Primero se analizó la capacidad de absorción de metales en planta de *Prosopis* en raíz, tallo y hojas mediante la tecnología de espectrometría de fluorescencia de rayos de onda dispersa (WDXR). Se calculó el porcentaje de germinación, y se midieron las longitudes de tallo y raíz. Posteriormente, se determinó el peso seco y fresco de las semillas germinadas. Los resultados de rasgos de tolerancia al estrés y la capacidad de germinación en presencia de estrés de Cu de la región de Chietla, en el Estado de Puebla, indican que el *Prosopis laevigata* (Mezquite), es una planta viable para la biorremediación de suelos contaminados por metales.

I. INTRODUCCIÓN

A partir del surgimiento del modelo económico industrializado de mediados de los 80's y principios de los 90's ha aumentado la generación y potencialización de diferentes problemáticas ambientales por lo que en 1987 se crea un modelo económico que pretende solucionar estas problemáticas, conocido actualmente como desarrollo sustentable, donde se declara en el libro "Nuestro Futuro Común" de 1987 (nombre original del Informe Brundtland) como principio elemental que el desarrollo sustentable debe cubrir y garantizar las necesidades básicas de las generaciones presentes sin comprometer las necesidades de las generaciones futuras dentro de un enfoque que pretenda mejorar la calidad de la vida humana sin rebasar las capacidades de carga de los ecosistemas que lo sustentan, bajo las dimensiones sociales, económicos y ambientales.

El 45.2% de la superficie del país presentaba degradación inducida por el hombre. El nivel de degradación predominante es de ligero a moderado, mientras que los procesos más importantes de degradación son la química (principalmente por la pérdida de fertilidad), la erosión hídrica y la erosión eólica. Estos tres procesos son responsables del 87% de los suelos degradados en el país. Entre las principales causas de degradación se identificaron el cambio de uso del suelo para fines agrícolas y el sobrepastoreo (17.5% en ambos casos). La deforestación (7.4%) ocupa el tercer lugar, seguida de la urbanización (1.5%) (SEMARNAT, 2004)

La contaminación de suelos por metales, actualmente afecta a la población en lo ambiental, social y económico, sino se prevé, controla y mitiga, seguirá repercutiendo para el medio ambiente, ya que contamina agua, suelo y aire. Por lo que cualquier propuesta de solución sustentable a dicha problemática, comprobada científicamente es de suma importancia. De aquí, la relevancia de demostrar que *Prosopis laevigata* (Mezquite) es una planta viable para la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados como el Cu.

II. JUSTIFICACIÓN

Actualmente los procesos inducidos por el hombre han disminuido su capacidad actual y/o futura del suelo para sostener la vida humana (Oldeman, 1989). La problemática ambiental del suelo ha sido producto de perturbaciones naturales y/o antropocéntricas siendo estas segundas la primera causa de deterioro del suelo, generando erosión, compactación, contaminación, desertificación y la pérdida de fertilidad, lo que ha conducido a la reducción de función de sus procesos y propiedades con el tiempo debido a la remoción y alteración del equilibrio dinámico del suelo con el medio ambiente; especialmente esto se ha ido incrementado después de la revolución industrial. La contaminación industrial, tecnológica, agropecuaria, minera y el uso indiscriminado de diversos fertilizantes químicos en el suelo con metales pesados, que se incorporan finalmente a ríos, a los vegetales, animales y alimentos alteran la sostenibilidad de la cadena trófica, provocando riesgos potenciales en la naturaleza y en la sociedad, debido a que originan serios problemas en la salud humana y animal (Waisberg, 2013).

Los mecanismos involucrados en la remoción de contaminantes son de tres tipos: físicos (sedimentación, filtración, adsorción, volatilización), químicos (precipitación, hidrólisis, reacciones de óxido-reducción o fotoquímicas) y biológicos (resultado del metabolismo microbiano, del metabolismo de plantas o de procesos de bioabsorción) (Delgadillo-López, González-Ramírez, *et.al*, 2011). La biorremediación tiene como objetivo reducir la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas, lo que lo hace un proceso amigable con el ambiente, técnicamente simple y altamente eficiente debido a las altas remociones de metales reportadas hasta ahora.

La evaluación del potencial de germinación de semillas de *Prosopis laevigata* (Mezquite) para la remoción de cobre generará conocimiento técnico científico como una alternativa para la biorremediación de suelos contaminados por metales.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. ANTECEDENTES

Actualmente se han realizado trabajos de fitorremediación con diferentes especies de plantas como indicadores de contaminación de suelos por metales pesados. En el caso de Chile en la región de Coquimbo ha sufrido una grave contaminación del suelo y el agua debido a los metales pesados de la minería, en particular el cobre, donde se realizó el estudio en diferentes especies endémicas de la región como *Acacias: horrida, cyclops, caven, decurrens, saligna, Atriplex: numularia, repanda, semubaccata, Prosopis chilensis, Casuarina sp, Eucalyptus camaldunensis, Dehnh y Shinus molle L.* La concentración de Cu se evaluó en tallos y hojas de los árboles y en diferentes profundidades del suelo. Los resultados indicaron que *Acacia saligna* tiene la mejor capacidad de acumulación de metales pesados (34.8 ppm en hojas y 12.3 ppm en tallos, ambos en suelos sin fertilizar), con tasas de supervivencia mayores de 80 % (Pizarro, Flores, *et.al*, 2016)

El mezquite no ha sido la excepción. Al.Farraj y Al-Wabel en el 2007 publicaron en la revista *Journal of Applied Sciences* bajo el título *Heavy Metals Accumulation of Some plant species grown on mining in the area of Mahad AD´Dahab, Saudi Arabian*, un estudio para remediación de suelos contaminados por metales Pb, Zn y Cu, utilizando *Prosopis juliflora* donde se obtuvo como resultado que la acumulación de los metales en tejido fue mayor hacia las hojas. Otro estudio realizado tuvo como objetivo presentar las variedades que logran más captación del metal y buscar los ejemplares que mejor podrían adaptarse a la problemática de desechos de las curtiembres nacionales en Argentina, utilizando la

fitorremediación *Prosopis laevigata* como un post- tratamiento. En las regiones del país más comprometidas por la contaminación donde se comprobó altos contenidos de cromo en los tejidos de la planta, 5461 y 8090 mg cr/ kg en tallo y raíz respectivamente. Esto demuestra además que trastoca eficientemente el cromo y por ello puede emplearse con propósitos de fitorremediación de suelos contaminados con este metal (Quezada y Varela, 2006). En Coimbatore India, se evaluó la capacidad de *P. juliflora* para remover de metales pesados (Cu y Cd) para determinar el uso como solución verde para descontaminar suelos contaminados. Los resultados arrojaron que el nivel de Cu se acumula en su gran mayoría en la raíz y brote (Senthilkumar, *et al*, 2005).

En México se realizó un estudio de análisis de la concentración total de arsénico (As) y de zinc (Zn) en plantas dominantes en sitios ubicados a diferentes distancias de la Presa de Jales. Los resultados muestran que a medida que las plantas están más alejadas de las presas de jales sus niveles de concentración de As y Zn disminuyen, al igual que en el suelo. Las hojas son las que concentran más estos elementos. El huizache (*Acacia farnesiana*), el táscate (*Juniperus deppeana*), la jarilla (*Baccharis glutinosa*), el mezquite (*Prosopis juliflora*) y el zacate pata de gallo (*Cynodon dactylon*) son las especies que presentaron las concentraciones más altas. No se encontraron evidencias de daños físicos en las plantas. Se halló lo esperado, es decir, que existe una tendencia de las plantas estudiadas a concentrar más As y Zn al estar cerca de la presa de jales (Puga, Sosa *et al.*, 2006).

El uso de *Prosopis* como planta para la remediación de suelos contaminados por metales ha tenido importancia investigativa a nivel mundial y nacional obteniendo resultados positivos para considerarse como un organismo de gran utilidad para el proceso de recuperación de suelos para la absorción de metales.

3.2 Características botánicas y ecológicas de las especies de las fabáceas o leguminosas.

La familia leguminosa es una de las más grandes, agrupando unos 650 géneros y 18 mil especies (Carranza y Villarreal, 1997). En muchos estudios, gramíneas y leguminosas (fabáceas) han sido seleccionadas por su potencial hospedero de la bacteria rhizobia para favorecer a la disminución de los contaminantes en suelo. El sistema radical de las leguminosas es extenso y fibroso, lo que les permite tener mayor área de superficie de raíz por metro cúbico de suelo que ninguna otra especie de planta y pueden penetrar el suelo a una profundidad de hasta 3 m. (Aprill y Sims, 1990). Entre éstas, se ubica el género *Prosopis*, comúnmente conocido como “mezquite”; dentro de éste grupo, se encuentran: el “mezquite” (*Prosopis glandulosa* L.); el “huizache” (*Acacia Farnesiana* L.); “chaparro prieto” (*A. amentacea* L.) y la “leucaena” (*Leucaena leucocephala* L.). Son utilizadas en baja escala como forraje para el ganado caprino y en algunos casos, para el ganado vacuno (Maldonado y Garza, 2000).

3.3 *Prosopis*.

Prosopis (mezquite) ha sido el foco de interés científico principalmente debido a sus adaptaciones fisiológicas y ecológicas a su entorno hiperárido (López, 2016). Taxonómicamente se describe perteneciente al orden Fabales, dentro de la familia: Fabácea, subfamilia: Mimosoideae. A nivel mundial existen 44 especies del género *Prosopis*, 42 de las cuales se encuentran en el continente americano, distribuidas en dos grandes centros: el norteamericano (mexicano-tejano) y el sudamericano (argentino-paraguayo-chileno). En México se distribuye en una superficie aproximada de 3,555,500 hectáreas (SFF, 1980) en la vertiente del pacífico, desde Michoacán hasta Oaxaca y en la del Golfo en Nuevo León, Tamaulipas y el norte de Veracruz, en la depresión central de Chiapas y en las regiones altas centrales del país. Los mezquites constituyen parte importante de la flora nacional e incluye las siguientes especies autóctonas: *P. glandulosa*, *P. juliflora*, *P. velutina*, *P. pubescens*, *P. reptans*, *P. articulata*, *P. tamaulipana*, *P.*

palmeri y *P. laevigata*. (Allen y Allen, 1981; Basak y Goyal. 1980; Felker, y Clark. 1980; Herrera *et al*, 1985; Miettinen *et al*, 1988; Trinick, M. J. 1980). (Figura 1)

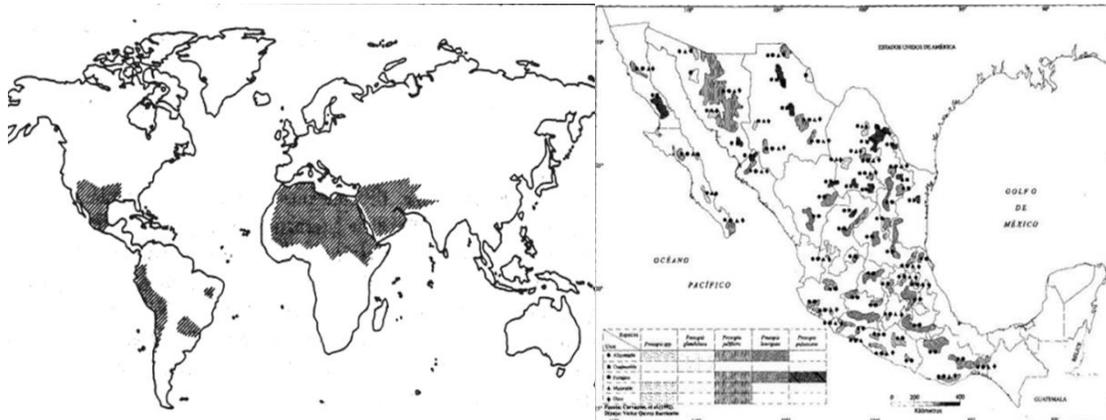


Figura 1. Distribución de los mezquites (*Prosopis* spp.) en el mundo y distribución geográfica y usos del mezquite (Cervantes, 2002).

De todas las especies mencionadas, subrayamos como objeto de investigación a *Prosopis laevigata* considerado como un organismo vivo, resistente, que tiene una alta tasa de transpiración. Estos atributos hacen al mezquite un candidato ideal para la detección y el estudio de la toxicidad y su tolerancia a los metales tóxicos. (Haque *et al.*, 2009). Otra de sus propiedades, es el impacto social en el desarrollo sustentable de la sociedad, cubriendo algunos aspectos de la necesidad humana, a nivel de la obtención y uso de su madera, leña, forraje, carbón, materiales para la construcción, alimentos, entre otros productos; y por tanto, influir en la creación de saberes para la comunidad.

3.4. El Suelo.

El suelo es una capa delgada que se ha formado muy lentamente, a través de miles de años, con la desintegración de las rocas superficiales por la acción del agua, los cambios de temperatura y el viento (FAO, 1994).

El suelo en estado natural está en un equilibrio dinámico con su medio ambiente e interactúa fuertemente con la biosfera y está lleno de macro y microfauna. En él se realizan funciones de descomposición y transformación de materia orgánica por los microorganismos, se produce el almacenamiento de agua, acciones de microorganismos que liberan nutrientes, el crecimiento de raíces, la absorción de agua para las plantas, la respiración, nutrición y disolución de minerales, así como la producción de nitrógeno que aprovechan las bacterias para el crecimiento de plantas, entre otras acciones.

La problemática ambiental del suelo ha sido producto de perturbaciones naturales y/o antropocéntricas siendo éstas segundas, la principal causa de deterioro del suelo, generando erosión, compactación, contaminación, desertificación y la pérdida de fertilidad, cambios que con el tiempo han alterado el equilibrio dinámico del suelo con el medio ambiente. Procesos que han conducido a la reducción de la funcionalidad de sus procesos y propiedades. Entre algunos otros contaminantes, destacan los metales pesados que pueden ser de origen natural o producto de actividades antropogénicas; lo que ha conducido a pérdidas significativas en el rendimiento agrícola y en los efectos peligrosos sobre la salud (Oldeman, 1989; Frankanberger, 2002; Lupankwa *et al.* 2004).

Existen diversas técnicas, y tratamientos biológicos o de biorremediación que tienen como sustento favorecer los procesos microbiológicos que de forma natural se producen en el suelo y que conllevan la degradación del contaminante (Sims, 1993; Fernández-Linares *et al.*, 2006) como son: bioestimulación, bioaumentación biodegradación en fase sólida y fitorremediación. La fitorremediación forma parte

de la biorremediación y puede aplicarse a contaminantes orgánicos presentes en sustratos sólidos, líquidos o en el aire.

3.5. Metales pesados

Los metales son los elementos químicos capaces de conducir la electricidad y el calor. Los metales pesados son un elemento químico con alta densidad (mayor a 4 g/cm³), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas y elevadas, en general tienen un efecto adverso sobre algunos organismos vivos. Hay 17 elementos que se consideran como muy tóxicos y a la vez fácilmente disponibles en muchos suelos en concentraciones que sobrepasan los niveles de toxicidad y son tóxicos en concentraciones bajas; algunos de estos elementos son: aluminio (Al), bario (Ba), berilio (Be), cobalto (Co), cobre (Cu), estaño (Sn), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cromo (Cr), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plata (Ag), selenio (Se), talio (Tl), vanadio (Va), oro (Au) y zinc (Zn) (Shimada, 2005; Concon, 2009; Rodríguez, 2013).

El hecho de que los metales no son biodegradables, los metales pesados se acumulan en los suelos que afectan al medio ambiente, lo que conduce a una posible exposición tóxica de la población (Wong *et al.*, 2006). Los metales pesados se incorporan al ambiente por medio de deposición de partículas de la atmósfera, incineración de residuos, lodos activados y los efluentes de aguas residuales, fertilizantes y plaguicidas químicos, residuos animales, procesos de minería metálica y tránsito vehicular (Davami, 2012)

La presencia de metales pesados en los suelos presentan un importante problema ambiental y a la salud humana; debido a los efectos tóxicos en la acumulación a lo largo de la cadena alimentaria y el riesgo adicional de contaminación del agua subterránea (Galán y Romero, 2008), afectaciones en las plantas por el estrés oxidativo inducido por él y en la salud humana causan cáncer, daños al sistema

nervioso, daño al funcionamiento de los órganos, al proceso de gestación, desarrollo anormal, entre otros; sin embargo, los seres vivos requieren para varias funciones biológicas, pequeñas cantidades de metales como: el hierro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), vanadio (Va), estroncio (Sr) y zinc (Zn). Así mismo, una escasa o excesiva concentración de éstos, pueden alterar procesos bioquímicos y/o fisiológicos ya mencionados.

3.6. Cobre.

Las plantas realizan sus funciones de forma normal con concentraciones de 5-30 mg de cobre por kg de tejido en peso seco (Orcutt y Nilsen, 2000); la concentración de cobre en la corteza terrestre se encuentra entre 20-30 mg de cobre por kg de suelo (Wedepohl, 1990). El cobre, a concentraciones ligeramente superiores a las requeridas por las plantas ($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de tejido en peso seco), produce efectos tóxicos tales como la inhibición del crecimiento en raíces y brotes (Pasternak *et al.*, 2005; Groppa *et al.*, 2008; Lequeux *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010). El cobre participa en la catálisis de reacciones de oxidación-reducción y forma parte como grupo prostético de enzimas que participan en procesos fundamentales para las plantas, tales como el transporte de electrones en la fotosíntesis y la respiración. (Fernández y Henriques, 1991)

Se ha observado que en las raíces, se inhibe el crecimiento por el cobre lo que puede ser resultado de una reducción en el proceso de división celular y del daño estructural o muerte de las células del meristemo apical (Jiang *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2009). Por otra parte, la reducción en el tamaño celular por el cobre ocasiona una contracción del diámetro de raíces y tallos, y una disminución en el crecimiento de hojas, lo que indica que el cobre también afecta el proceso de expansión celular (Pasternak *et al.*, 2005; Kasim, 2006). Éstos efectos nocivos del cobre (Cu) sobre las plantas, genera procesos incompletos en su crecimiento y desarrollo.

3.7. Fitorremediación.

En los últimos años, se han empleado diversas técnicas para limpiar los suelos y los efluentes residuales. Estos métodos incluyen intercambio iónico, precipitación química, adsorción por carbones activados, ósmosis inversa y nanofiltración (Machado *et al.*, 2010). Sin embargo, estos métodos son caros, requieren alta energía y no son capaces de eliminar completamente los metales pesados. En contraste, la fitorremediación se propone como una alternativa sustentable para el tratamiento de suelos contaminados (Alkorta *et al.*, 2004). La fitorremediación utiliza las plantas para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar contaminantes (Kelley *et al.*, 2000; Miretzky *et al.*, 2004; Cherian y Oliveira, 2005; Eapen *et al.*, 2007; Cho *et al.*, 2008). Varios estudios han demostrado que las plantas terrestres, tales como *Brassica juncea*, *Salsola kali*, y *Prosopis* spp., cultivadas en hidroponía y agar pueden remover cantidades significativas de metales pesados, que promueve su posible utilización en procesos de fitorremediación (Gardea, 2005).

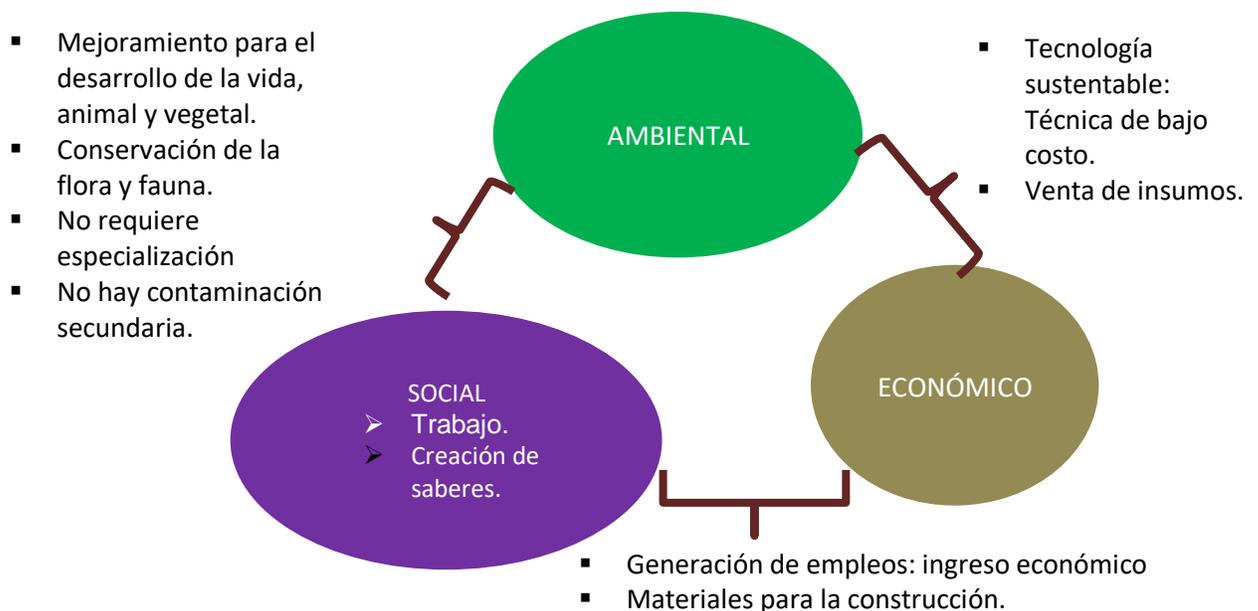


Figura 2. Interrelación sustentable para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados. Fuente: Elaboración propia.

3.8. Germinación de semillas.

Como un indicador de la fitotoxicidad de metales, varios autores han reportado diferentes índices para biomonitorizar estos efectos, uno de ellos está basado en la germinación y desarrollo de las plántulas (Baki y Anderson, 1973; Mhatre y Chaphekar, 1982). Dentro del desarrollo de un vegetal, la germinación es una de las etapas más importantes. La germinación inicia con la imbibición o absorción de agua por la semilla y finaliza con la elongación del eje embrionario, principalmente de la radícula (Román, 2000, Bewley y Black, 1985b).

La mayoría de los estudios de metales pesados en el cultivo de plantas se han centrado en determinar diferentes concentraciones de metales en las diferentes partes de las plantas para conocer el perjuicio potencial que representan para la salud humana y animal (Lamhamdi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2012). Otros enfoques, han tratado la temática de la fitotoxicidad de estos metales a través de evaluar el efecto sobre el crecimiento y la germinación, para comprender la manera en que las plantas interaccionan con ellos y determinar el efecto perjudicial tanto para la planta, el consumidor y el ambiente (Massa *et al.*, 2010; Sainger *et al.*, 2011)

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

4.1. Pregunta de investigación

¿Cuál es la viabilidad de la germinación de *Prosopis laevigata* bajo estrés de Cu para ser usada como alternativa en la fitorremediación de suelos contaminados por Cu?

V. HIPOTESIS

5.1. Hipótesis general

Prosopis laevigata (mezquite) es una planta viable para el uso en la biorremediación de suelos contaminados por Cu.

VI. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general.

Evaluar el potencial de *Prosopis* como alternativa para la recuperación de suelos contaminados con Cu.

6.2. Objetivos específicos.

6.2.1 Analizar la capacidad de absorción de metales en plantas de *Prosopis laevigata* (en raíz, tallo y hoja), mediante la técnica de espectroscopia de rayos x.

6.1.2 Evaluar la tolerancia de las semillas de *Prosopis laevigata* (mezquite) a diferentes concentraciones de Cu (cobre).

6.1.3 Analizar e interpretar los rasgos de tolerancia al estrés de Cu en semillas de *Prosopis laevigata*.

VII. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación es de tipo experimental. Se utilizaron semillas de *Prosopis laevigata* y se partió del análisis de metales pesados, sobre la muestra de suelo de la región de Chietla en el Estado de Puebla, México; identificados y proporcionados por la alumna de doctorado en microbiología Verónica Ramírez Falcón. En los que se investigó la capacidad de absorción de metales en plantas de *Prosopis laevigata* (en raíz, tallo y hoja); mediante la técnica de espectroscopia de rayos X de onda corta; se procedió, con la germinación de ochenta y cuatro semillas, repartido en siete tratamientos, con 12 repeticiones, incluyendo un control libre de cobre (Cu). Se realizaron las pruebas de rasgos de tolerancia al estrés y finalmente, los resultados se analizan estadísticamente.

7.1 Localización

Puebla cuenta con 217 municipios. En la región V denominada el valle de Atlixco y Matamoros se localiza el municipio de Chietla ubicada $18^{\circ} 26' 00''$ $18^{\circ} 36' 00''$, de latitud norte y los meridianos $98^{\circ} 31' 24''$ y $98^{\circ} 42' 36''$ de longitud occidental. En el 2010 el municipio contaba con 33,935 personas (INAFED.gob.mx) (Figura 3).

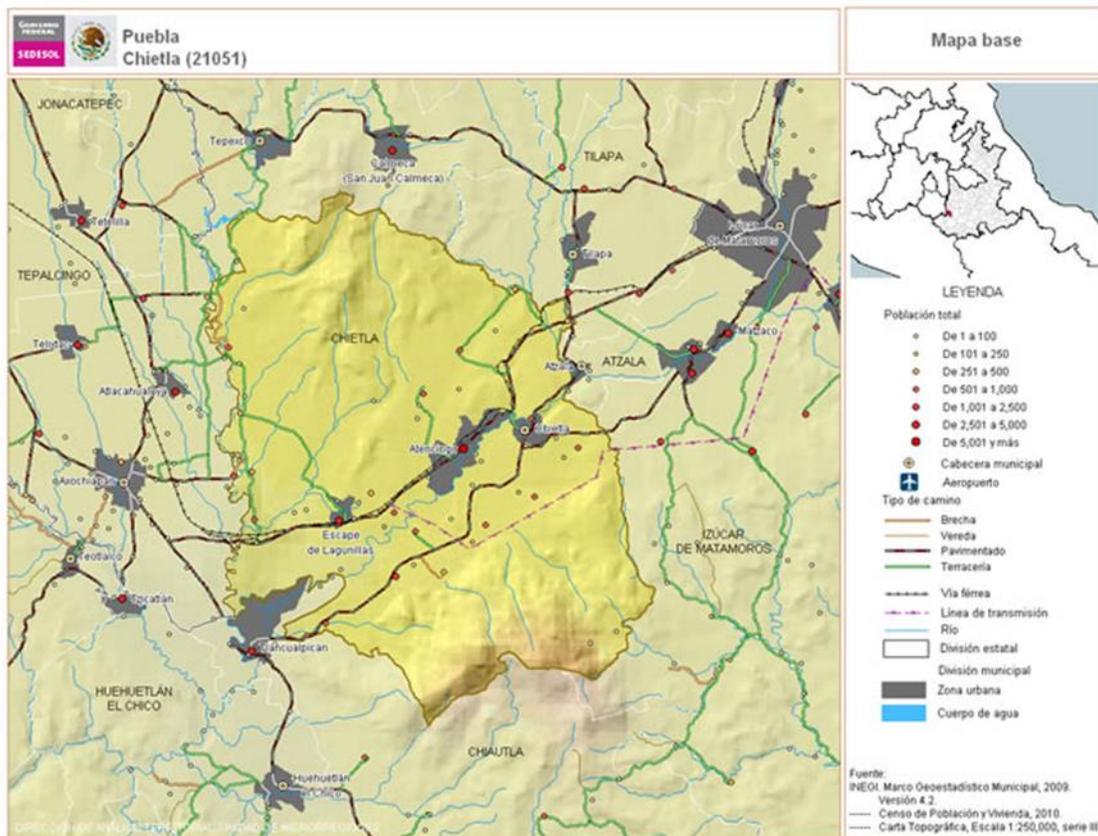


Figura 3. Localización del Municipio de Chietla, Puebla, 2010 (INAFED.gob.mx)

El municipio presenta clima cálido subhúmedo y cálido húmedo; presenta grandes áreas de selva baja caducifolia asociada con vegetación secundaria arbustiva y arbórea al noroeste y sudeste. También se puede observar al sudeste pequeñas manchas de matorrales de encino asociados a vegetación arbustiva, por lo que la madera y la minería son sus recursos naturales más predominantes.

7.2 Fase de campo

La recolección de la muestra de suelo y planta se ubica exactamente en Rio Nexapa Chietla, Puebla. $18^{\circ}31'21.0''N$ $98^{\circ}34'38.4''W$ (Figura 4 y 5). Las muestras se desplantaron con pala y pico: se recolectaron las vainas, se colocaron en bolsa negra y de papel para su traslado.



Figura 4. Localización del lugar y sitio muestra en la región de Chietla, Puebla. (Google Maps, 2016)



Figura 5. Zona de recolección de muestras (Ramírez, 2016)

7.3 Fase de laboratorio

7.3.1 Análisis de la cantidad de metales en raíz, tallo y hoja de la muestra *P. laevigata*.

Las plantas obtenidas se pusieron a secar en bolsas de papel debidamente etiquetadas a 30°C. Posteriormente, se separó la raíz, el tallo y las hojas y se pulverizaron en licuadora; las muestras pulverizadas se colocaron en cuatro crisoles de 25 mL de porcelana: 1 para hoja, 1 para raíz, 2 para tallo. Se calcinaron por medio de mechero eléctrico aproximadamente 40 min. Después se colocó por 44 h en la mufla a 500°C.

Las muestras calcinadas de raíz, tallo y hoja se sometieron a tamizado, posteriormente se depositó en el molde para pastilla de 13 mm para someterse a prensado a 2.5 de presión por 1 minuto. Finalmente, se sometieron a Espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXR);

7.3.2 Escarificación y germinación de *Prosopis laevigata*

Las semillas se sumergieron en de solución de H₂SO₄ x 30 min posteriormente un lavado con agua estéril de 5 repeticiones se prosiguió con la germinación mediante la siembra de las semillas en agua gelosada (0.7% w/v) 48 horas a 30°C en ausencia de luz.

El sistema de cultivo se realizó en cajas de 10cm x 5 cm se rellenaron de solución nutritiva agar agua a .07% (agar .035 g y agua destilada cbp) con las siguientes características CuSO₄*5H₂O de 0, 60, 300, 600, 900, 1200, 1600. La germinación de las semillas fue a partir del tercer día. Se recolectaron los datos de germinación, crecimiento de la raíz y tallo. Al final del experimento se realizó el registro del peso fresco y peso seco de la planta.

Las muestras de suelo fueron analizadas externamente por personal del laboratorio de Ecología Molecular Microbiana.

7.4 VARIABLES RESPUESTA

7.4.1 Evaluación de parámetros de germinación de *Prosopis* en presencia de Cu.

7.4.1.1. Estimación del porcentaje de germinación.

$$(PG \%) = \frac{g}{12} \times 100$$

Dónde:

PG= porcentaje de germinación.

g = No. de semillas germinadas, 12 es el número de réplicas analizadas para cada concentración.

7.4.1.2. Longitud del tallo (cm.), longitud de la raíz (cm.).

7.4.1.3. Peso fresco de las plántulas (g) y peso seco de las plántulas (g).

7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las medias de las observaciones se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con una significación 0.05. Adicionalmente, para la comparación múltiple de todas las medias se aplicó la prueba de Tukey.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Análisis de la cantidad de metales en muestras de suelo.

Con base a la consulta de la carta geológica del municipio de Chietla en los datos del Instituto Nacional de Estadística e Información la roca madre del suelo de estudio es rendzina y por los resultados obtenidos del análisis de suelo se clasifica nuestro suelo en leptosol, el cual se caracteriza por tener calcio y zinc. Respecto a los resultados indican que los suelos contienen elevadas concentraciones de metales pesados como cobre, hierro, molibdeno, zinc, titanio, arsénico y cromo, los cuales exceden de 2-5 veces los valores permitidos. En el caso del Cu (cobre) presenta 67.0 ppm (Ramírez, 2016). (Figura 6 y Tabla 1)

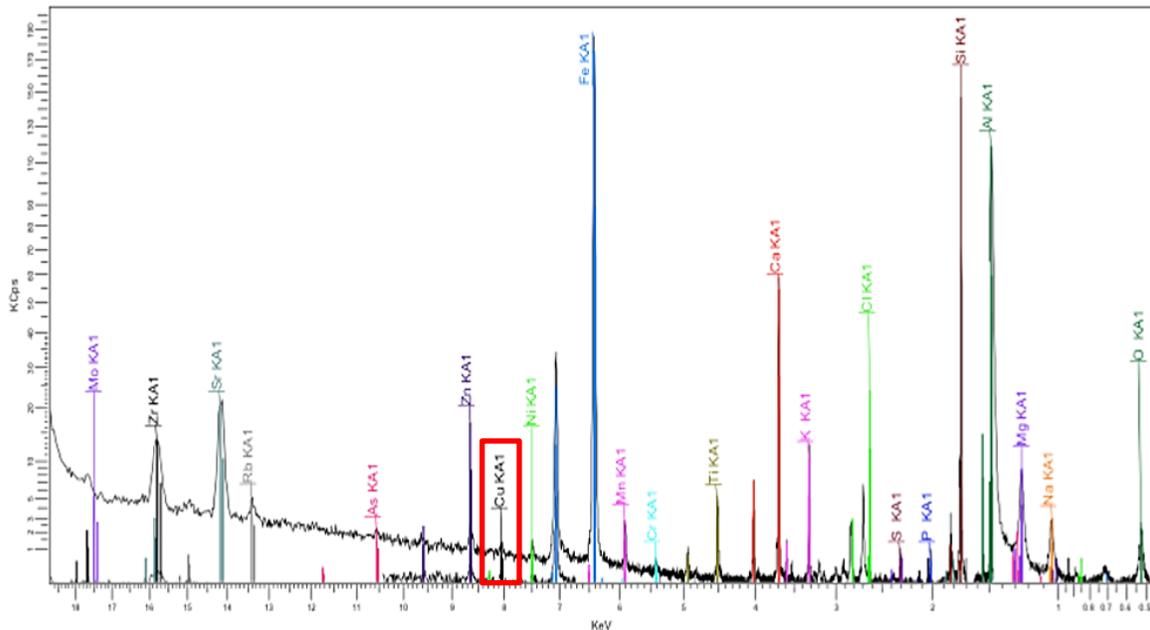


Figura 6. Identificación de la presencia de metales en suelo por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

Tabla 1. Concentración de metales en ppm del suelo mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

 <p>Leptosol (calcio y silicio)</p>	FÓRMULA	CONCENTRACIÓN
	Si	2150 ppm
	Ca	653 ppm
	Al*	619 ppm
	Fe*	513 ppm
	K	135 ppm
	Mg	760 ppm
	Na	650 ppm
	Ti*	530 ppm
	Sr**	200 ppm
	P*	140 ppm
	S	896 ppm
	Mn*	864 ppm
	Mo***	291 ppm
	Cl*	228 ppm
	Cr**	208 ppm
	Rb*	175 ppm
Zn***	175 ppm	
Cu*	67.0 ppm	

8.2 Análisis de la cantidad de metales en raíz, tallo y hoja de la muestra *P. laevigata*.

Los resultados de la hoja y raíz demuestran la ausencia de Cu (Figura 7 - 8 y Tabla 2 y 3); sin embargo en tallo tiene una presencia de 644 ppm de Cu (Figura 9 y Tabla 4), que se encuentra por encima de los 5-30 ppm de cobre por kg niveles normales de tejido en peso seco en planta.

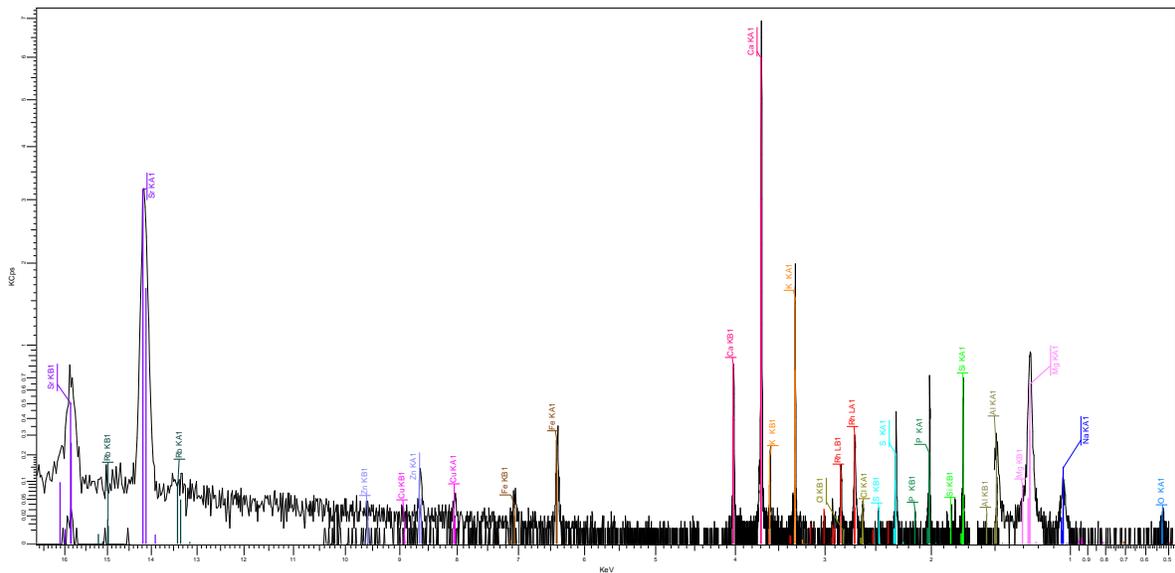


Figura 7. Identificación de la presencia de metales en hoja por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

Tabla 2. Concentraciones de metales en ppm en hoja mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

HOJA	
FÓRMULA	CONCENTRACIÓN
Ca	3750 PPM
K	573 PPM
Mg	556 PPM
Si	456 PPM
S	199 PPM
P	168 PPM
Cl	86 PPM
Fe	42 PPM
Al	40 PPM
Sr	38 PPM
Na	29 PPM

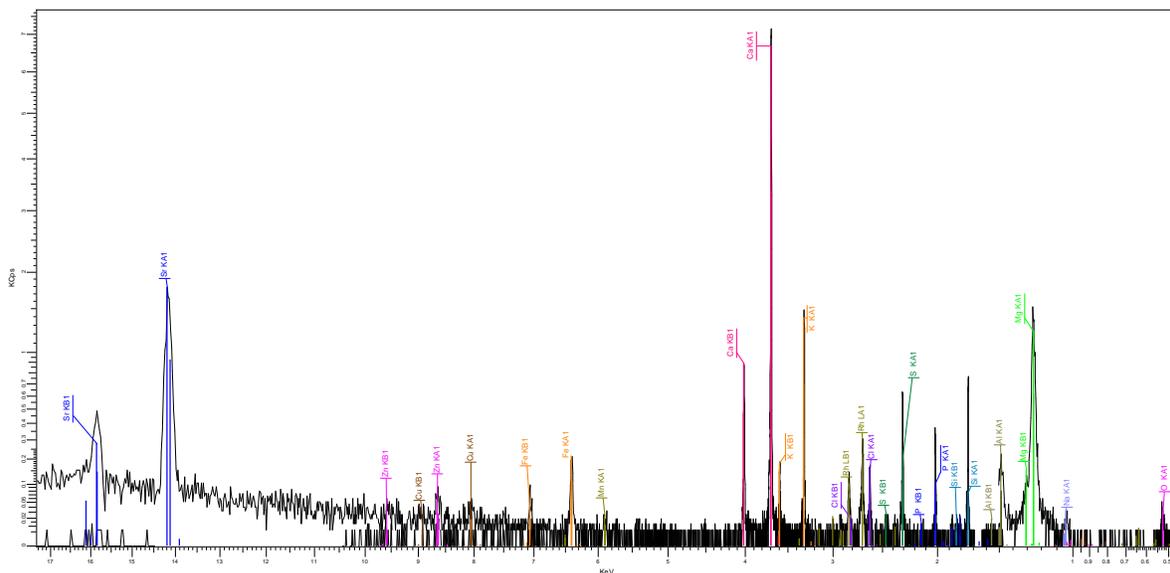


Figura 8. Identificación de la presencia de metales en raíz por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

Tabla 3. Concentración de metales en ppm de raíz mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

RAIZ	
FÓRMULA	CONCENTRACIÓN
Ca	3760 PPM
Zn	939 PPM
K	765PPM
Si	405 PPM
Mg	380 PPM
P	330 PPM
S	134 PPM
Na	124 PPM
Sr	76 PPM
Fe	58 PPM
Al	57 PPM

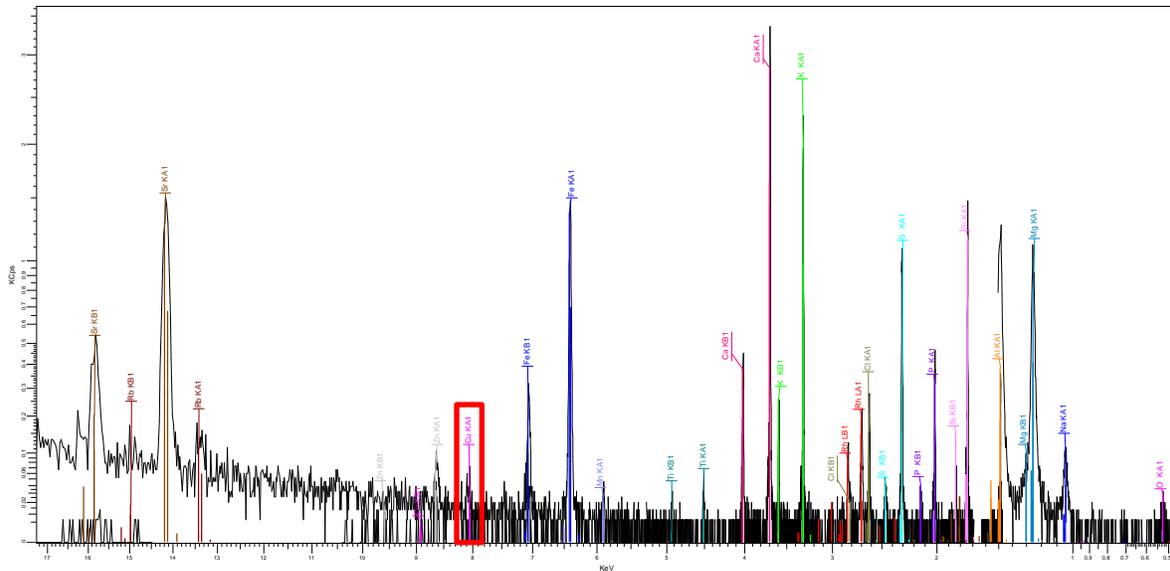


Figura 9. Identificación de la presencia de Cu en tallo por medio de la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF), provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

Tabla 4. Concentración de Cu en ppm del tallo identificado mediante la técnica de espectrometría de fluorescencia de rayos X de onda dispersa (WDXRF) provenientes de la región de Chietla, Puebla. (Ramírez, 2017)

TALLO	
FÓRMULA	CONCENTRACIÓN
Ca	2000 PPM
K	1030 PPM
Si	843 PPM
Cu	644 PPM
Zn	427 PPM
Mg	400 PPM
S	384 PPM
Fe	264 PPM
P	230 PPM
Al	206PPM
Cl	193 PPM
Na	120 PPM
Sr	30 PPM
Ti	29 ppm

8.3 Análisis de rasgos de tolerancia al estrés

8.3.1 Análisis de la capacidad de germinación de *Prosopis* bajo estrés producido por Cu.

La presencia de Cu incide en porcentaje de germinación de la semilla (Figura 10). El porcentaje de germinación decrece a partir de la concentración de 600 ppm. La mayor germinación de semilla se observa en el control (0 ppm), considerada como un 100% de germinación para fines de comparación; y el menor porcentaje se observó a 1600 ppm de cobre con un 42% de germinación (Tabla 5).

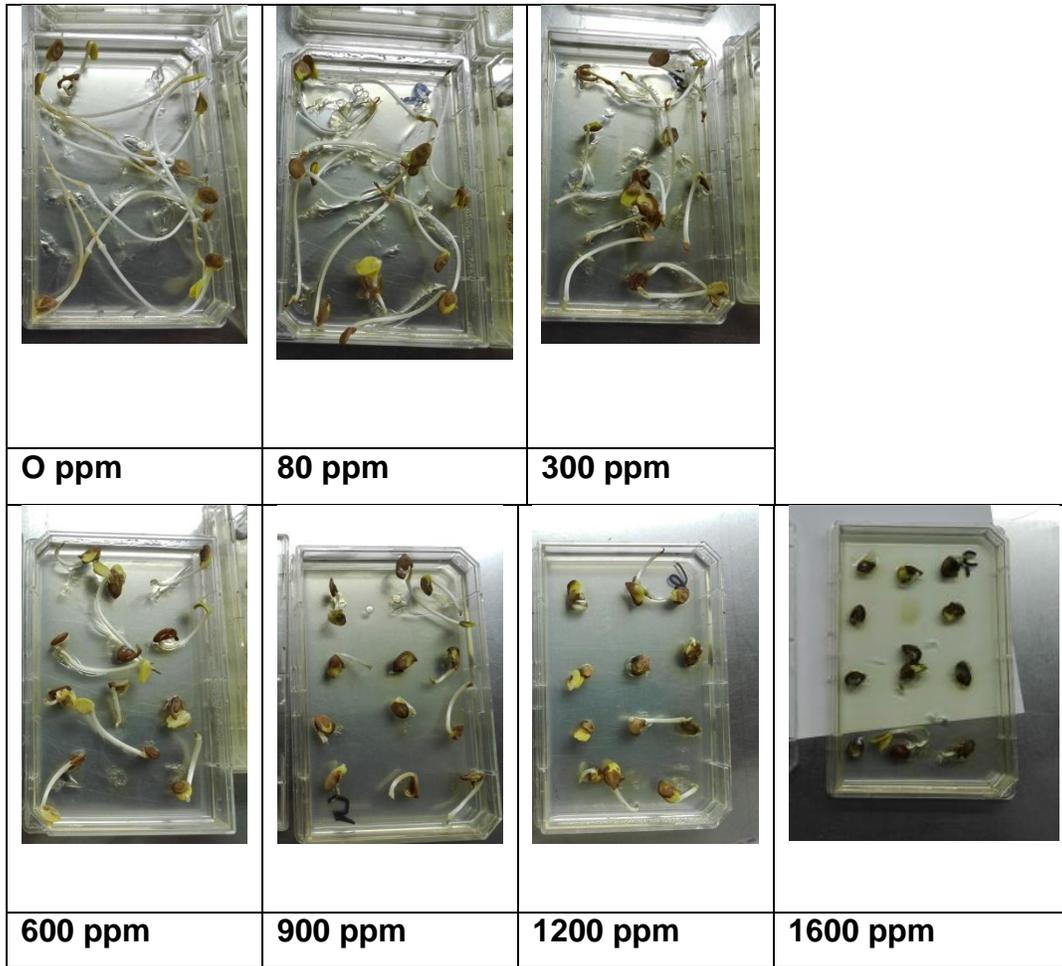


Figura 10. Germinación de *Prosopis laevigata* en diferentes concentraciones de Cu *in vitro*.
Fuente: Elaboración propia, 2016.

Tabla 5. Porcentaje de germinación en diferentes concentraciones de Cu.

Concentración.	0 ppm	80 ppm	300 ppm	600 ppm	900 ppm	1200 ppm	1600 ppm
Semillas germinadas.% de germinación.	12	12	12	11	11	10	5
	100.00	100.00	100.00	91.67	91.67	83.33	41.67

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Las diferencias del nivel de estrés por cobre se correlaciona ($R > 0.86$, $p \leq 1$), con respecto al porcentaje de germinación. Lo que indica que mientras la concentración sea mayor el porcentaje de germinación disminuye lo que demuestra la dependencia entre las variables (Tabla 6 y Figura 11).

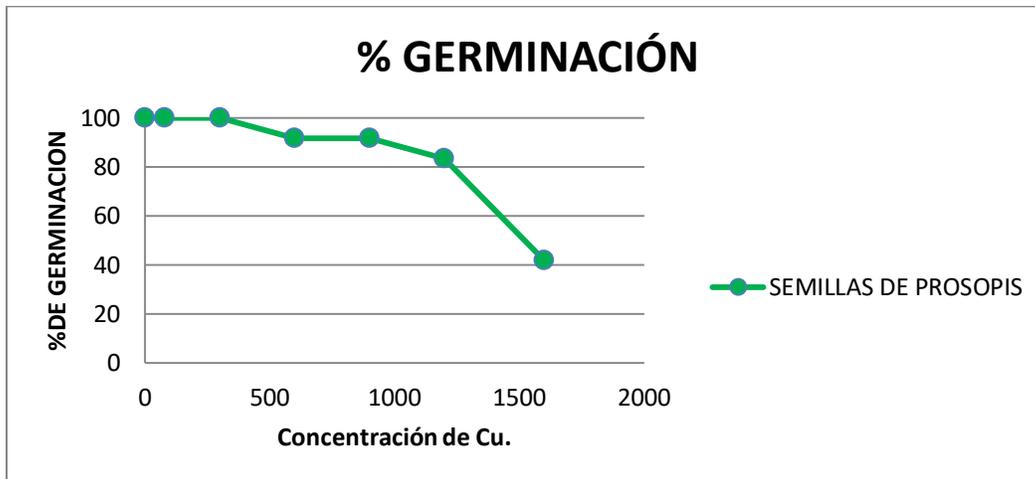


Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de *Prosopis laevigata* en diferentes tratamientos bajo condiciones controladas en laboratorio. Fuente: Elaboración propia, 2016.

Tabla 6. Índice de correlación de Pearson. Los coeficientes de correlación altamente significativos se muestran en negrita (Pearson, $p \leq 0.01$). Se observa una alta correlación entre el porcentaje de germinación y las diferentes concentraciones de Cu en el crecimiento de la plántula.

	ppm	% DE GERMINACION
ppm	1	
% DE GERMINACIÓN	0.86270449	1

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Por otra parte, los resultados obtenidos de Cu en suelo son de 644 ppm lo que indicaba que el *Prosopis* puede crecer bajo concentraciones elevadas de Cu, sin embargo en este estudio el estrés a las semillas de *Prosopis* en su máximo fue de 1600 ppm; lo que demuestra que la semilla de *Prosopis* resiste concentraciones de 644 ppm hasta 1600 ppm para su germinación.

8.3.2 Análisis de longitud de tallos y raíz (cm)

8.3.2.1 Análisis de tallos

El estrés por cobre, disminuyó el porcentaje de germinación (GP) y el crecimiento de las plántulas. Así mismo, redujo el tamaño de tallo (Tabla 7). La morfología del control de plantas tratadas después de 6 días de experimentación, mostró, oxidación de los cotiledones a partir de la concentración 300 ppm; y en tallo, a partir de 600 ppm. (Figura 12).



Figura 12. Morfología del crecimiento de las plántulas estresadas con cobre después de 6 días de tratamiento. De izquierda a derecha 0 ppm, 80 ppm, 300 ppm, 600 ppm, 900 ppm, 1200 ppm y 1600 ppm. Fuente: elaboración propia, 2016

Tabla 7. Longitudes (cm) del tallo durante el crecimiento de la plántula en condiciones controladas a partir del primer día de germinación.

TALLO	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
0 ppm	4.58	5.8	6.95	6.75
80 ppm	3.94	4.59	5.48	5.9
300 ppm	2.97	3.96	4.86	5.76
600 ppm	2.01	2.9	3.38	2.22
900 ppm	1.13	1.13	2.53	1.96
1200ppm	0.59	1.09	1.18	1.64
1600 ppm	0.23	0.23	0.03	0.36

Fuente: Elaboración propia, 2016.

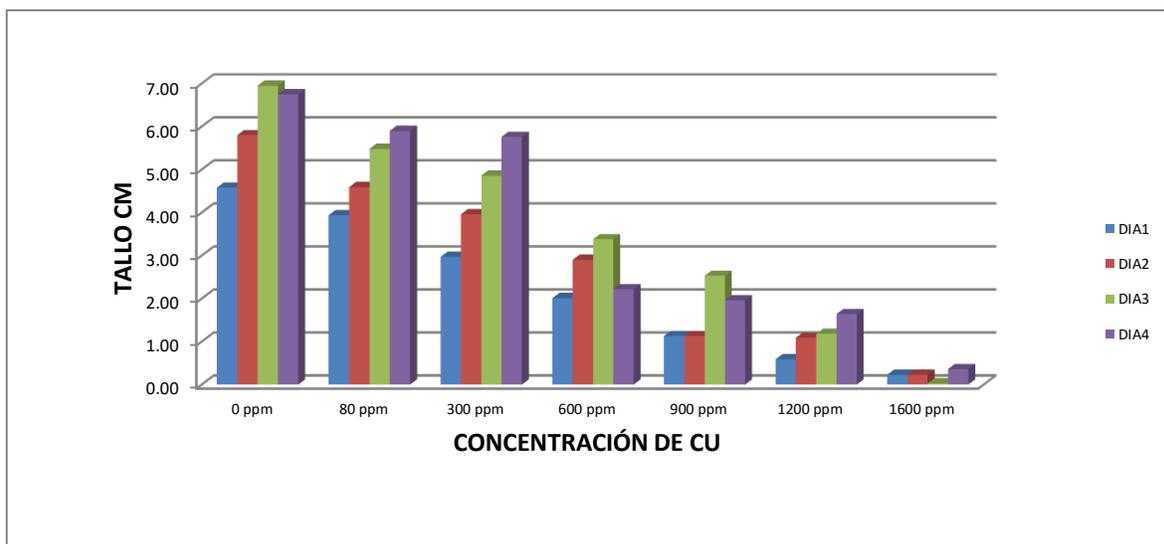


Figura 13. Crecimiento de tallos de las diferentes concentraciones de Cu en los días trascurridos de experimentación bajo condiciones controladas. Fuente: Elaboración propia, 2016.

En los resultados de la gráfica de barras (Figura 13) los tallos se reducen considerablemente a partir de 600 ppm y se observa una uniformidad entre las concentraciones 0 a 300 ppm y 600 a 1200 ppm. Sin embargo se encontraron diferencias significativas al 5% en el análisis de varianza (Tabla 8) ya que p es menor a 0.05, lo que se concluye que si existe diferencias entre los grupos.

Debido a que se detectaron diferencias significativas en el efecto del Cu sobre los tallos, se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo al

criterio Tukey (Tabla 9 y Figura 14), la prueba muestra cuatro grupos a, b, c y d en los que se observan las diferencias significativas con excepción de entre 0, 80 y 300 ppm; entre 300 y 600 ppm; entre 600, 900 y 1200 ppm y entre 1200 y 1600 ppm en las que no se observa diferencias significativas.

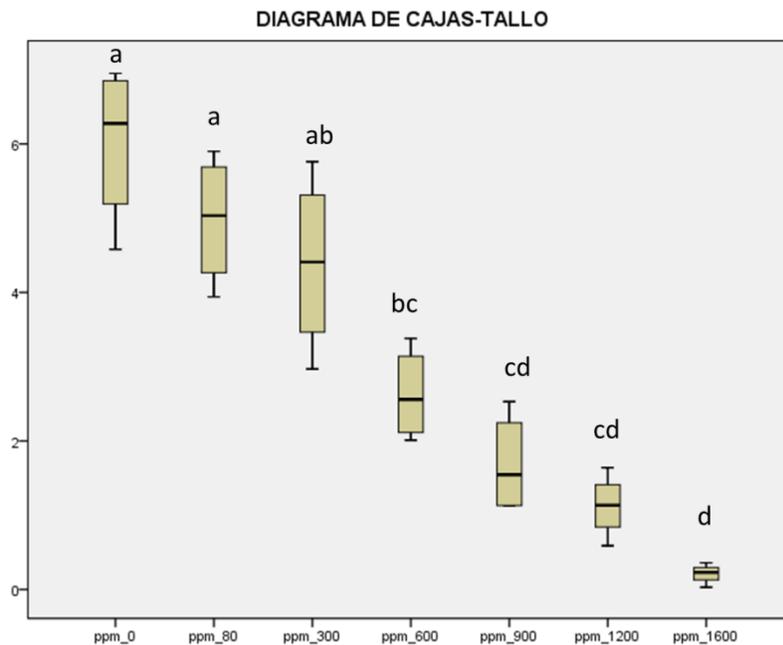


Figura 14. Diagrama de caja y bigote entre los promedios de la longitud de tallos de *Prosopis Laevigata*. Fuente: Elaboración propia, 2016.

Tabla 8. Análisis de varianza de los datos de tallo. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Sec.	Contribución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	6	112,41	89,38%	112,41	18,7354	29,46	0,000
Error	21	13,35	10,62%	13,35	0,6359		
Total	27	125,77	100,00%				

Tabla 9. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formación de cuatro grupos a,b,c,y d.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
C1	4	6,020	A
C2	4	4,978	A
C3	4	4,387	A B
C4	4	2,627	B C
C5	4	1,687	C D
C6	4	1,125	C D
C7	4	0,2125	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.3.2.2 Análisis de raíz.

La máxima longitud obtenida en raíz fue 6.95 en 0 ppm; a partir de la concentración de 80 ppm, se reduce considerablemente el tamaño, presentando como máxima 0.99 cm. La máxima longitud obtenida en tallo fue de 6.5 en una concentración de 0 ppm, sin embargo, el efecto más notorio de tallo fue a partir de la concentración 900 ppm de 3.2 cm. en su tercer día, concluyendo con 5.3 cm., en el último día de registro de datos (Tabla 10). En la concentración de 600 ppm, se observa un tono azulado en algunas raíces.

Tabla 10. Longitudes de la raíz durante el crecimiento de la plántula en condiciones controladas a partir de tercer día de germinación.

RAÍZ	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4
0ppm	1.80	2.93	2.76	3.07
80ppm	0.6	0.35	0.99	0.95
300ppm	0.28	0.24	0.36	0.62
600ppm	0.19	0.26	0.19	0.25
900ppm	0.08	0.16	0.21	0.44
1200ppm	0.01	0.09	0.09	0.38
1600ppm	0.24	0.07	0.18	0.19

Fuente: Elaboración propia, 2016.

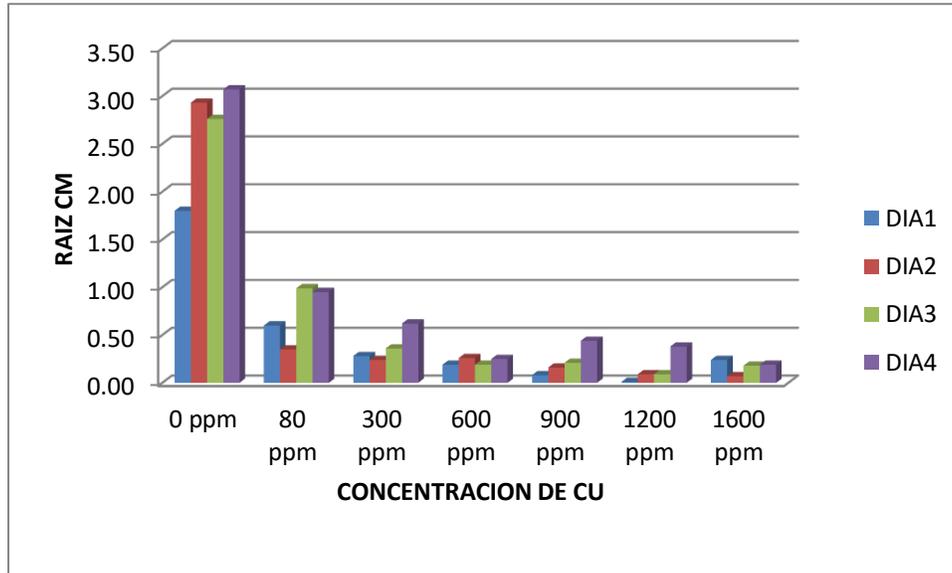


Figura 15. Crecimiento de raíz de las diferentes concentraciones de Cu en los días trascurridos de experimentación bajo condiciones controladas. Fuente: Elaboración propia, 2016.

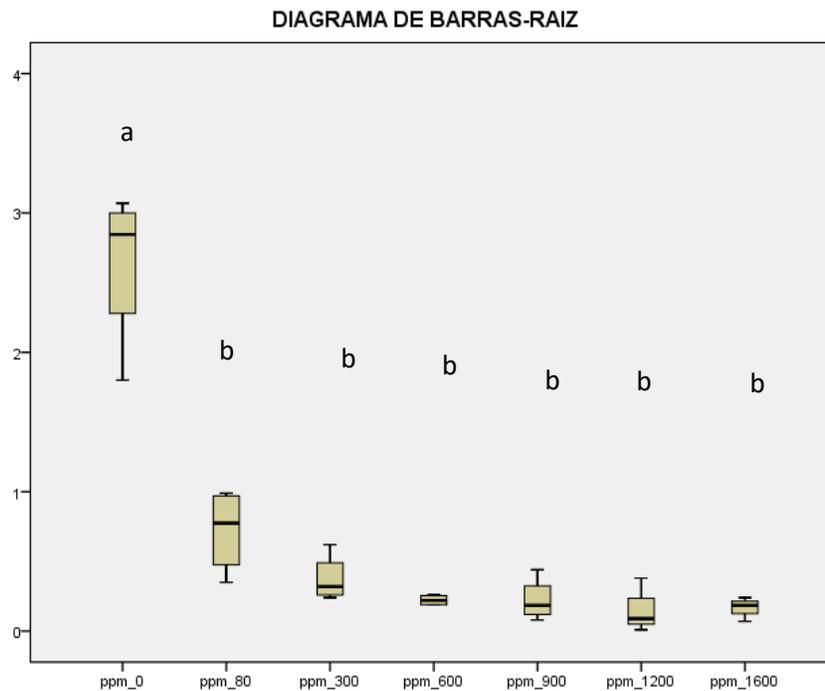


Figura 16. Diagrama de caja y bigote entre los promedios de la longitud de raíz de *Prosopis Laevigata* en condiciones controladas. La media indica la reducción de las raíces; consideradamente en a partir de 80 ppm. Fuente: Elaboración propia, 2016.

En los resultados de la gráfica de barras de las raíces (Figura 15) demostraron que a partir de la concentración 80 la raíz sufre una disminución considerada de más del 50% en el tamaño, sin embargo la gráfica se puede observar una igualdad o mínima diferencia entre los datos obtenidos de las raíces a partir de la concentración 80 ppm a 1600 ppm. Sin embargo se encontraron diferencias significativas al 5% (Tabla 11) ya que p es menor a 0.05, lo que se concluye que si existe diferencias entre los grupos.

La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo al criterio Tukey (Tabla 12), que existen dos grupos a y b, demostrando que el conjunto de los datos de la concentración 0 ppm existe una diferencia significativa entre las medias del resto de las concentraciones. Y que a partir de la concentración 80 ppm hasta 1600 ppm no existe diferencia entre las medias, como lo explica la (Figura 16). Lo que significa que la plántula sufre disminución o bajo crecimiento de las raíces en condiciones de estrés de Cu.

Tabla 11. Análisis de varianza de los datos de raíz. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	Sec.	Contribución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	6	19,576		92,78%	19,576	3,26268	44,95	0,000
Error	21	1,524		7,22%	1,524	0,07259		
Total	27	21,100		100,00%				

Tabla 12. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formación de dos grupos a y b.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
C14	4	2,640	A
C15	4	0,722	B
C16	4	0,3750	B
C17	4	0,2225	B
C18	4	0,2225	B
C20	4	0,1700	B
C19	4	0,1425	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Por otra parte las concentraciones 0, 80 y 300 ppm se observó en la plántula crecimiento de la primera hoja (Figura 17)



Figura 17. Crecimiento de la primera hoja en plántula de *Prosopis laevigata* en condiciones controladas. De izquierda a derecha concentraciones de 0,80 y 300 ppm de Cu. Fuente: Elaboración propia, 2016.

8.4 Peso fresco (g)

Los contaminantes de los suelos afectan el crecimiento normal de las plantas; en el caso del estrés de Cu en plantas genera estrés oxidativo, como uno de los resultados es la pérdida de humedad.

Los promedios respecto a las diferentes concentraciones de Cu nos indican que valor más alto de humedad en plántula es en el control con 0.131 g y la menor en 1600 ppm con .013 g (Tabla 13)

Tabla 13. Peso fresco (g) de los diferentes tratamientos de *Prosopis Laevigata* estresadas bajo diferentes concentraciones de Cu en condiciones controladas al final del experimento

No. muestra	PF_0	PF_80	PF_300	PF_600	PF_900	PF_1200	PF_1600
1	0.1036	0.1113	0.1062	0.0881	0.0582	0.0400	0.0423
2	0.169	0.0981	0.0918	0.0568	0.0497	0.0390	0.0292
3	0.1343	0.1125	0.0619	0.0899	0.0452	0.0524	0.0303
4	0.1443	0.103	0.1169	0.0921	0.0778	0.0500	0.0317
5	0.1234	0.0793	0.0935	0.0638	0.0497	0.0451	0.0165
6	0.1598	0.1175	0.1074	0.0977	0.0496	0.0398	0
7	0.1178	0.0915	0.0899	0.0572	0.0425	0.2250	0
8	0.1319	0.1358	0.0983	0.0622	0.0349	0.0405	0
9	0.1281	0.0748	0.0850	0.0784	0.0817	0.0345	0
10	0.0878	0.0886	0.0968	0.0303	0.0444	0.0271	0
11	0.1423	0.0756	0.0582	0.0306	0	0.0208	0
12	0.1323	0.0676	0.0966	0.0567	0	0.0000	0
Media	0.131	0.096	0.092	0.067	0.044	0.051	0.013

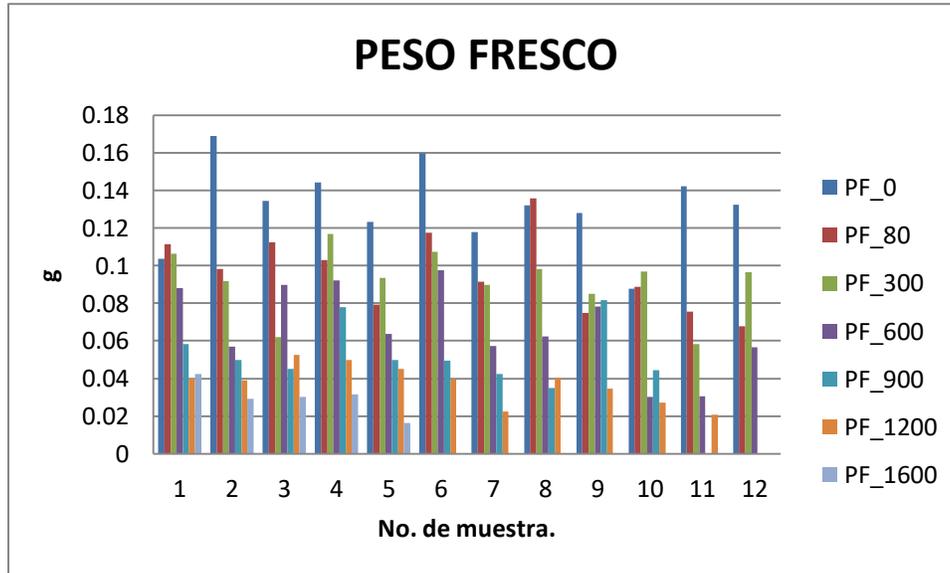


Figura 18. Peso fresco de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas. Fuente: Elaboración propia, 2016.

En los resultados de la gráfica de barras de las raíces (Figura 18) demostró que la plántula absorbe agua en cada uno de los tratamientos, sin embargo la gráfica se puede observar una igualdad o mínima diferencia entre los datos obtenidos de los pesos frescos. Mediante la aplicación del análisis de varianza (Tabla 14) arroja que $p = 0.815$, lo que significa que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias obtenidas a diferentes concentraciones de cobre.

La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo al criterio Tukey (Tabla 15), comprueba que no existen diferencias significativas entre medias.

Tabla 14. Análisis de varianza de los datos de peso fresco. El p es mayor que 0.05, se concluye que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	11	0,01302	0,001183	0,61	0,815
Error	72	0,13977	0,001941		
Total	83	0,15279			

Tabla 15. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formación de un solo grupo. Donde C4 a C11 son las concentraciones de cobre desde 0-1600 ppm

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
C4	7	0,0880	A
C6	7	0,0817	A
C1	7	0,0785	A
C2	7	0,0762	A
C3	7	0,0752	A
C8	7	0,0719	A
C9	7	0,0689	A
C5	7	0,0673	A
C7	7	0,0602	A
C10	7	0,0536	A
C12	7	0,0505	A
C11	7	0,0468	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

El Cu no afecta la absorción de agua en la germinación de semillas de *Prosopis*.

8.5 Peso seco (g)

Las muestras se dejaron secar por dos días y se tomaron los datos de peso seco en gramos. La relación entre el peso seco y la concentración de Cu da como resultado que el peso mayor se encuentra en la concentración de 80 ppm con .022 g y la menor en 1600 ppm con .002 g; las afectaciones del crecimiento de la plántula se ven observables en la pérdida de humedad donde la concentración mayor afecta significativamente el peso seco de esta (Figura 19 y 20) (Tabla 16).



Figura 19. Morfología de la planta de *Prosopis laevigata* sometida a deshidratación después de haber sido sometida a estrés de Cu. Fuente: Elaboración propia, 2016.

Tabla 16. Pesos secos de *Prosopis laevigata* después posterior a la deshidratación.

No. de muestra	PS_0	PS_80	PS_300	PS_600	PS_900	PS_1200	PS_1600
1	0.0126	0.131	0.0086	0.0073	0.001	0.011	0
2	0.0175	0.0097	0.0106	0.0142	0.0127	0.0047	0
3	0.0118	0.0127	0.0098	0.0079	0.0055	0.0039	0
4	0.0105	0.0085	0.014	0.0088	0.0119	0.001	0
5	0.0143	0.0146	0.011	0.0082	0.0082	0.0038	0
6	0.0157	0.0123	0.0172	0.0102	0.0076	0.007	0
7	0.0131	0.0111	0.0068	0.0071	0.0045	0.0062	0
8	0.0131	0.0119	0.0107	0.0062	0.0058	0.0022	0.0046
9	0.0115	0.0156	0.0084	0.0061	0.011	0.0055	0.0067
10	0.014	0.0102	0.0116	0.0059	0.0043	0.0042	0.0027
11	0.0141	0.0112	0.0136	0.0085	0	0	0.0012
12	0.0103	0.0117	0.0124	0.0071	0	0.0037	0.0096
Medias	0.013	0.022	0.011	0.008	0.006	0.004	0.002

Fuente: Elaboración propia, 2016.

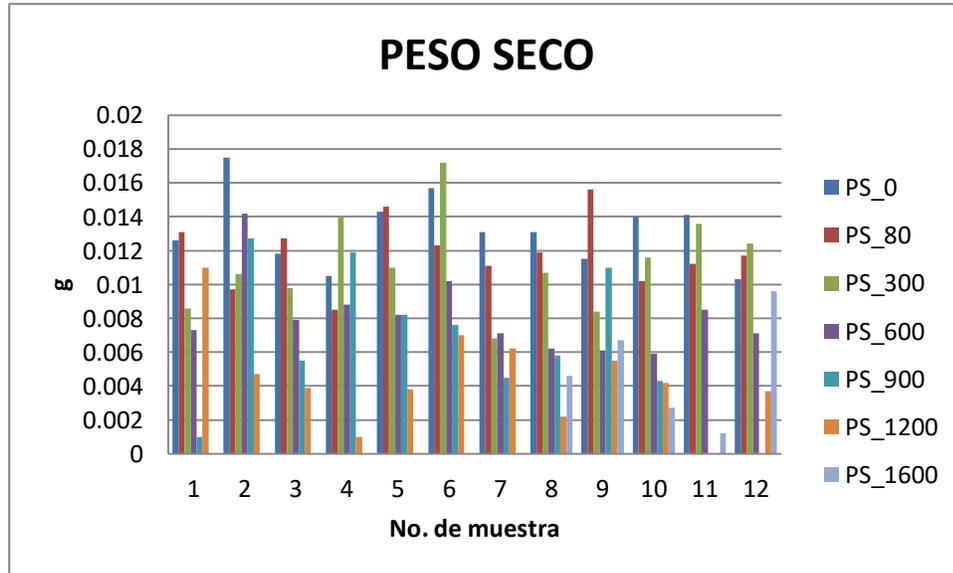


Figura 20. Crecimiento de peso seco de las diferentes concentraciones de Cu en los días transcurridos de experimentación bajo condiciones controladas. Fuente: Elaboración propia, 2016.

Mediante la aplicación del análisis de varianza (Tabla 17) arroja que $p = 0.982$ lo cual es mayor a 0.05, lo que significa que no hay diferencia entre los grupos del peso seco.

La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo al criterio Tukey (Tabla 18), comprueba que no existen diferencias significativas entre medias.

Tabla 17. Análisis de varianza de los datos de raíz. El p es menor que 0.05, se concluye que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	11	0,000086	0,000008	0,31	0,982
Error	72	0,001824	0,000025		
Total	83	0,001910			

Tabla 18. Análisis de Tukey de los datos de tallo. Formación de un solo grupo.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
C19	7	0,01000	A
C15	7	0,00991	A
C22	7	0,00926	A
C18	7	0,00859	A
C25	7	0,00783	A
C17	7	0,00781	A
C21	7	0,00779	A
C14	7	0,00766	A
C23	7	0,00756	A
C16	7	0,00737	A
C20	7	0,00697	A
C24	7	0,00694	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Por lo anterior, se puede concluir que la presencia de diferentes concentraciones de Cu no afecta la masa seca durante la germinación de semillas de *Prosopis*.

Finalmente, los resultados muestran que la planta *Prosopis laevigata* absorbe cobre y someter las semillas a diferentes concentraciones de Cu tiene efectos sobre la germinación, la supervivencia de las plántulas y el crecimiento de la especie.

Los efectos de la germinación de semillas de *Prosopis laevigata* bajo diferentes concentraciones de estrés de Cu, son resultado de la reducción en el tamaño celular por el cobre ocasiona una disminución del diámetro de raíces y tallos, y una disminución en el crecimiento de hojas; lo que indica que el cobre también afecta el proceso de expansión celular (Pasternak *et al.*, 2005; Kasim, 2006). Los resultados demuestran que el porcentaje de germinación de la semilla que oscila entre el 100% en el control y un 80% en las concentraciones 80, 300, 600, 900 ppm y un 40% en concentraciones de 1600 ppm de Cu; las observaciones físicas en las semillas se ven afectadas en la disminución de raíces a partir de la concentración de 80 ppm, oxidación en tallo a partir de la concentración 300 ppm y un tono azulado en cotiledón, tallo y raíz en la concentración 900 ppm, sin embargo se observa la primera hoja en la concentración control, 80 y 300 ppm lo que indica un índice de supervivencia positivo de la plántula bajo estrés de Cu.

Las tensiones ambientales que puede sufrir una semilla en la etapa sensible de germinación puede afectar el crecimiento temprano de las plántulas. La mayoría de los estudios de acumulación de metales pesados en *Prosopis* se han realizado en planta, sin embargo en este estudio se procede desde la germinación que es la primera fase del crecimiento de las plantas con contacto con el suelo contaminado por metales.

IX. CONCLUSIÓN

El uso de nuevas tecnologías y un mejor conocimiento de los organismos han permitido dar soluciones para limpiar el ambiente. La capacidad de *P. laevigata* como planta acumuladora de Cu para implementación en la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados dentro de los tres principios del desarrollo sustentable: económico, social y ambiental. En el principio económico la fitorremediación es un proceso económico viable para zonas de carencia económica, es una planta que se puede tener en la zona sin tener que comprar ejemplares, no es necesario implementar personal especializado, no requiere de energía y es generadora de materia prima; socialmente, las personas pueden obtener insumos como maderas para la elaboración de muebles o la construcción, elaboración de carbón, etc., con ello le da una alta probabilidad de aceptación entra la comunidad ya que tiene un efecto estético, las personas podrían incluir sus saberes diarios para la protección al *Prosopis*; los beneficios ambientales del uso de *Prosopis* como fitorremediación trae consigo beneficios a la captación de carbono, beneficios al impacto visual, restauración de la flora y fauna de la región y actúa positivamente sobre el suelo, mejorando sus propiedades físicas y químicas, debido a la formación de una cubierta vegetal (Figura 21).

Finalmente la investigación se abordó interdisciplinariamente dentro de las áreas de la microbiología, ciencias ambientales y semiconductores generando nuevo conocimiento y soluciones eficientes e integrales al problema de contaminación de suelos por Cu.

XI. LITERATURA CITADA

Allen O. N., E. K. Allen.1981. The Leguminosa: a zurce boom of características, uses and modulación. The Universito of Wisconsin Pres, Madison,E.U.

Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerrill J.M., Amezaga I., Albizu I., Onaindia M. and Garbisu C. 2004. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Reviews in Environmental Science Biotechnology.

Al-Farraj A.S, Al – Wable M.I. 2006. Evalution of soil pollution Around Mahad AD´Dahab Mine. Research Center of Food Sciences and Agricultural College. No 21

Baki, A.A., Anderson, J.D. 1973. Vigour determination in soybean by multiple criteria. Crop Science, 13: pp 630-633.

Bewley JD, Black M. 1985b. Storage, imbibition and germination. Germination structure and composition, Ed. Plenum Press, New York. 89-133

Cervantes Ramirez Concepcion Marta. 2002. Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México. UNAM.

Cherian S., Oliveira M. 2005. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. Environmental Science & Technology. 39: pp 9377-9390.

Basak M. K., Goyal S. K. 1980. Studies on tree legumes. II. Further additions to the list of nodulating tree legumes. Plant Soil 56: pp 39-51.

Carranza P, Villarreal Q M. A y J. A. 1997. Leguminosas de Coahuila, México. Claves y Descripciones de Especies. UAN. Saltillo Coah. México.pp 1-58

CONCON J.M. 2009. Heavy metals in food. In: Food Toxicology, Part B: Contaminants and Additives. New York, Dekker.1043-1045

Cho, C., Yavuz-Corapcioglu, M., Park, S., Sung, K. 2008. Effects of Grasses on the Fate of VOCs in Contaminated Soil and Air. *Water, Air, & Soil Pollution*. 187 pp 243-250.

Davami A. H., Gholami, A. 2012. Biomonitoring of heavy metals in environment by button mangrove plant. International Conference on Nuclear Energy, Environmental and Biological Sciences (ICNEEBS'2012) Bangkok (Thailand).

Eapen, S., Singh, S., D'Souza, S. F. 2007. Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. *Biotechnology Advances*. 25: 442-451.

FAO. Ecología y enseñanza rural. 1994. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/w1309s/w1309s04.htm>

Felker, P., Clark P. R. 1980. Nitrogen fixation (acetylene reduction) and cross inoculation in 12 Prosopis. Martinus Nijhoff, The Hague/Kluwer Academic Publishers.

Fernández-Linares, L.C. *et al.* 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. México: Instituto Mexicano del Petróleo/Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Natural/Instituto Nacional de Ecología

Fernandez JC, Henriques FS. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Botanical. Review*. 57: 246-273.

Frankenberger, W.T. 2002. Preface. In: Environmental chemistry of arsenic (W.T. Frankenberger, ed.) Marcel Dekker, New York.

Gardea-Torresdey JL, Peralta-Videa JR, de la Rosa G Y Parsons JG. 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*. 249: 1797-1810.

Groppa MD, Zawoznik MS, Tomaro ML, Benavides MP. 2008. Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and copper stress. *Biological Trace Element Research*. 126: 246-256.

Galán Emilio, Romero Baena Antonio. 2008. Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la sociedad española de mineralogía*. Macía. No.10. 48-60p

Haque. N, Peralta- Videa J.R, Duarte- Gardea. M y Gardea-Torresdey J.L. 2009. Differential effect of metals/metalloids on the growth and element uptake of mesquite plants obtained from plants grown at a copper mine tailing and commercial seeds. *Elsevier Sciences Ltd*. Dec. 100(24): 6177-82

Herrera, M. A., Bedmar E. J., Olivares J. 1985. Host specificity of *Rhizobium* strains isolated from nitrogen-fixing trees and nitrogenase activities of strain GRH2 in symbiosis with *Prosopis chilensis*. *Plant Science*. 42:177-182.

INAFED. 2010. Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. SEGOB Secretaría de Gobernación.2010. Disponible en <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla>

INEGI. 2015. "Estadísticas a propósito del día mundial del suelo (5 de diciembre)". Aguascaliente. Disponible en <http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2015/suelo0.pdf>

Jiang W, Liu D, Liu X. 2001. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. *Biological Plant*. 44: 105-109

Kasim WA. 2006. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *International Journal of Agriculture and Biology*. 8: 123-128

Kelley, C., Gaither, K. K., Baca-Spry, A., Cruickshank, B. J. 2000. Incorporation of phytoremediation strategies into the introductory chemistry laboratory. *The Chemical Educator*. 5:140-143.

- Maldonado Aguirre, L. J, De la Garza F. E. 2000. El Mezquite en México rasgos de importancia productiva y necesidades de desarrollo. En: Frías Hernández J. T., V. Olalde-Portugal, VernonCarter E. J. Eds. El Mezquite árbol de usos múltiples. Estado actual del conocimiento en México. Universidad de Guanajuato, México. 37-50.
- Machado M.D., Soares H.M.V.M, Soares V.E. 2010. Removal of chromium, copper, and nickel from an electroplating effluent using a flocculent brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Water Air and Soil Pollution*. 212:199-204.
- Massa, N, Andreucci F, Poli M, Aceto M, Barbato R, Berta G. 2010. Ecotoxicology and Environmental Safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1988–1997
- Miretzky, P., Saralegui, A., Fernández-Cirelli, A. 2004. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere*. 57: 997-1005
- Mhatre, G.N, Chaphekar S.B. 1982. Effect of heavy metals on seed germination and early growth. *Journal of Environmental Biology*. 3: 53-63
- Miettinen, P., Lukkanen O., Johansson S, *et al.* 1988. Rhizobium nodulation in *Prosopis jugiflora* seedling at different irrigation levels in eastern Kenya. *Plant Soil*. 112:233-238.
- Lamhamdi, M, Bakrim A, Aarab A, Lafont R, Sayah F. 2011. Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. *C. R. Biologies*. 334:118_126
- Li, Q, Chen Y, Fu H, Cui Z, Shi L, Wang L, Liu Z. 2012. Health risk of heavy metals in food crops grown on reclaimed tidal flat soil in the Pearl River Estuary, China. *Journal of Hazardous Materials*. 227_ 228: 148_ 154

López Yared Michel Claudia, España Gil Francisco, Ortiz Fuentes Gabriela *et. al*, 2016. Bioaccumulation and changes in the photosynthetic apparatus of mesquite. Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California (ICAUABC), Mérida, Yucatán, México

Lupankwa, K., Love, D., Mapani, B.S., Mseka, S. 2004. Impact of a base metal slimes dam on water systemms, Madziwa Mine, Zimbabwe. *Physics and Chemistry of the Earth*. 29:1145-1151.

Oldeman, L.R. 1988. Guidelines for General Assessment of the Status of Human-Induced Soil Degradation. ISRIC Working Paper and Preprint 88/4.

Orcutt DM, Nilsen ET. 2000. Phytotoxicity and soil pollution: heavy metals and xenobiotics. En *Physiology of Plants Under Stress: Soil and Biotic Factors*. Wiley. Nueva York, EEUU. pp. 495-501

Pasternak T, Rudas V, Potters G, Jansen MAK. 2005. Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. 53: 299-314.

Román PR. 2000. Efecto de iones y otros factores físicos sobre la germinación de semillas. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 44 (3): 233-236.

Puga Soraya, Sosa Manuel, De la mora Antonio, Pinedo Carmelo, Jiménez Jorge. 2006. Concentraciones de as y zn en vegetación nativa cercana a una presa de jales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 22 (2):75-82.

Quezada Romina, Varela Eliana. 2006. Remediación natural para completar la depuración del cromo (VI) en efluentes de curtiembres. Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional Villa María - Córdoba – Argentina.

Rico-Rodríguez, Miguel Ángel, Otazo-Sánchez, Elena María, Prieto-García, Francisco, Acevedo-Sandoval, Otilio Arturo, & Román-Gutiérrez, Alma Delia. (2013). Caracterización de tres suelos en Hidalgo y Querétaro, México:

disponibilidad y daño tóxico por arsénico en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 45(1)

Sainger, PA, Dhankhar R, Sainger M, Kaushik A, Singh RP. 2011. Assessment of heavy metal tolerance in native plant species from soils contaminated with electroplating effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74: 2284– 2291

Semarnat. 2004 Dirección General de Gestión Forestal y de Suelos. México. Disponibles en http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen/03_suelos/cap3.html. Consultado el 8 de diciembre del 2017.

Shimada, A.M. 2005. Nutrición animal. 3 Ed. México: Trillas. 388 p

Sims, R.C. 1993. Site Characterization Requirements, United States Environmental Protection Agency (ed.). *Biorremediation of Hazardous Waste Sites: Practical Approaches to Implementation*. Washington: United States Environmental Protection Agency. 3-1-3-19.

Trinick, M. J. 1980. Relationships amongst the fast growing rhizobia of *Lablab purpureus*, *Leucaena leucocephala*, *Mimosa* spp., *Acacia farnesiana* and *Sesbania grandiflora* and their affinities with other rhizobia groups. *Journal of Applied Microbiology*. 49:39- 53.

Waisberg, m., joseph, p., hale, b. And beyersmann, D. 2013. Molecular and celular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*. 3:95-117.

Wong J.W.C., Selvam A. 2006. Speciation of heavy metals during co-composting of sewage sludge with lime. *Chemosphere*. 63:980-986.