



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

---

---

El efecto del EDTA sobre *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* en la extracción de metales pesados de suelo de Cuernavaca, México.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

P R E S E N T A

**CASTILLO DELGADO BEATRIZ GUADALUPE**

ÁREA: AMBIENTALISMO

LABORATORIO DE CONTAMINACIÓN Y

FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. ESTHER MATIANA GARCÍA AMADOR**

México, D.F. Mayo 2013

FINANCIADO POR PROYECTO PAPIIME: PE 202311



# ÍNDICE

	<b>Página</b>
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Metales pesados en el suelo	2
2.2 Características generales de los metales pesados del estudio	4
2.2.1 Cromo	4
2.2.2 Níquel	4
2.2.3 Plomo	5
2.2.4 Zinc	6
2.2.5 Cobre	6
2.2.6 Cadmio	7
2.3 Contaminación por metales pesados	8
2.4 Fitorremediación	8
2.5 Fitoextracción y EDTA	10
2.6 Plantas fitorremediadoras	11
3. Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.)	12
4. Pasto bermuda ( <i>Cynodon dactylon</i> L.)	14
5. JUSTIFICACIÓN	16
6. PROBLEMÁTICA A RESOLVER	16
7. HIPÓTESIS	16
8. OBJETIVOS	17
8.1 Objetivo general	17
8.2 Objetivos particulares	17

9. MATERIAL Y MÉTODO	18
9.1 Zona de colecta de suelo	18
9.2 Colecta del suelo	20
9.3 Preparación del suelo	20
9.4 Especies vegetales	20
9.5 Variables evaluadas	21
9.6 Análisis de planta	21
9.7 Análisis de suelo	22
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
10.1 Análisis físicos y químicos del suelo	23
10.2 Concentración de metales pesados en suelo	27
10.3 Crecimiento de las especies vegetales (Desarrollo)	29
10.4 Concentración de metales pesados en planta	31
10.5 Factor de translocación	38
10.6 Análisis estadístico	39
11. CONCLUSIONES	41
12. BIBLIOGRAFÍA	42
13. ANEXO	50
14. FOTOS	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pagina</b>
FIGURA 1 <i>Medicago sativa L.</i>	12
FIGURA 2 <i>Cynodon dactylon L.</i>	14
FIGURA 3 Vista de la zona de colecta de suelo	19
FIGURA 4 Concentración de metales pesados en suelo de Cuemanco	28
FIGURA 5 Altura promedio de los ejemplares de <i>Medicago sativa L.</i> a las 23 semanas de tratamiento en suelo de Cuemanco	29
FIGURA 6 Altura promedio de los ejemplares de <i>Cynodon dactylon L.</i> a las 21 semanas de tratamiento	30
FIGURA 7 Concentración de metales pesados en <i>Medicago sativa L.</i> y <i>Cynodon dactylon L.</i> cultivados en suelo de Cuemanco con y sin EDTA	33
FIGURA 8 Concentración de metales pesados en <i>Medicago sativa L.</i> y <i>Cynodon dactylon L.</i> cultivados en suelo de Cuemanco con y sin EDTA	35
FIGURA 9 <i>Medicago sativa L.</i> cultivada en suelo de Cuemanco sin EDTA	64
FIGURA 10 <i>Medicago sativa L.</i> cultivada en suelo de Cuemanco con EDTA	64
FIGURA 11 <i>Cynodon dactylon L.</i> cultivado en suelo de Cuemanco sin EDTA	64
FIGURA 12 <i>Cynodon dactylon L.</i> cultivado en suelo de Cuemanco con EDTA	64

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pagina</b>
CUADRO 1 Resultados de las pruebas físicas y químicas	23
CUADRO 2 Promedios de la concentración de metales pesados en suelo de Cuemanco	27
CUADRO 3 Promedios de la concentración de metales pesados en diferentes órganos de <i>Medicago sativa L.</i> y <i>Cynodon dactylon L.</i>	31
CUADRO 4 Translocación de metal en <i>Medicago sativa L.</i> y <i>Cynodon dactylon L.</i> en suelo de Cuemanco sin EDTA y con EDTA	38
CUADRO 5 Diferencias estadísticamente significativas entre raíz, tallo y hoja de <i>Medicago sativa L.</i> y <i>Cynodon dactylon L.</i>	39
CUADRO 6 Diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos	40

## RESUMEN

Los metales pesados, representan una amenaza para los seres vivos, debido a su bioacumulación y biomagnificación, por lo que se ha empleado la fitorremediación para mitigar el impacto de estos en el suelo, esta técnica, se basa en el uso de plantas para la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelo y agua. El proceso de fitorremediación puede ser optimizado de diferentes maneras, en el caso de metales pesados, puede ser más eficiente cuando se incrementa la biodisponibilidad del metal por la adición de agentes quelantes que forman complejos solubles fácilmente asimilados por las plantas. Este proyecto se realizó para evaluar la eficacia de un agente quelante (EDTA), para movilizar los metales del suelo hacia las plantas: *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* Se utilizó suelo de Cuernavaca con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) para el cual se añadió 0.1 g de EDTA por kilogramo de suelo y suelo de Cuernavaca sin EDTA que sirvió como testigo.

Los resultados obtenidos son: *Medicago sativa L.* tuvo una acumulación mayor de Cr en raíz (47.6 mg/Kg); de Pb en tallo (65 mg/Kg) de Zn en hoja (29.8 mg/Kg); de Cd en tallo (3.9 mg/Kg) en suelo donde se añadió EDTA; y, de Ni en raíz (19 mg/Kg); de Cu en hoja (4.4 mg/Kg) en suelo sin EDTA. En el caso de *Cynodon dactylon L.* presentó concentraciones más altas de Cr (20.2 mg/Kg), Ni (13.9 mg/Kg), Cu (10.7 mg/Kg), en raíz, y, Zn (29.6 mg/Kg) en parte aérea, en suelo con EDTA, y, Pb (66.7 mg/Kg), Cd (4.4 mg/Kg), en raíz, en suelo sin EDTA.

Se concluye que *Medicago sativa L.* es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y, tolerante para Cromo, Níquel, Cobre, en suelo con y sin EDTA; y, *Cynodon dactylon L.* es hiperacumuladora de Zinc en suelo sin EDTA, y, tolerante para Cromo, Níquel, Plomo, Cobre y Cadmio en ambos tratamientos.

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la revolución industrial, la contaminación del medio ambiente con metales tóxicos se ha incrementado dramáticamente (Bidar *et al.*, 2007; del Rio *et al.*, 2002). Entre las diferentes fuentes de contaminación con metales, se incluyen los efluentes industriales, la producción de combustibles, la minería, la utilización de productos químicos agrícolas, la pequeña industria (incluida la producción de baterías, productos de metal, fundición de metales, las industrias de recubrimiento de cable), la combustión de carbón; la aplicación insegura o el exceso de (a veces prohibidos) pesticidas, fungicidas y fertilizantes (Jadia y Fulekar, 2009). Durante estos procesos los contaminantes se liberan continuamente al agua y el suelo, dañando a los organismos (Wang *et al.*, 2009).

Los metales pesados representan una amenaza para los seres vivos, por lo que se han desarrollado una serie de métodos para enmendar el impacto causado, estos suelen ser costosos y pueden afectar de manera irreversible las propiedades del suelo, agua y de los seres vivos que en ellos habitan (Poulik, 1999). Técnicas como la excavación, solidificación, estabilización, lavado del suelo y fitorremediación se han empleado para mitigar el impacto de metales pesados en el ambiente del suelo (Sung *et al.*, 2011).

Cuando las tecnologías de remediación se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación (también se usan: fitorrecuperación, fitocorrección, fitorrestauración o fitorrehabilitación) (Carpena y Bernal, 2007); consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. Esta novedosa tecnología tiene como objetivo degradar y/o asimilar los metales pesados presentes en el suelo, lo cual tiene muchas ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos en lugares contaminados; en primer lugar es una tecnología de bajo costo, en segundo lugar, posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y en tercer lugar su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal (Prieto *et al.*, 2009).

La fitorremediación, incluye la fitoestabilización y fitoextracción, que se consideran altamente rentables y no perjudiciales para las características físicas, químicas y biológicas del suelo. En la fitoextracción los metales pesados son eliminados a través de absorción y posterior translocación desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas. Con el fin de acelerar el proceso de fitoextracción, se han utilizado diferentes quelantes para ayudar a una rápida translocación de metales del suelo a la plantas (Sung *et al.*, 2011).

Se ha reconocido que el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) es uno de los productos químicos más eficaces en la mejora de fitodisponibilidad de algunos metales en el suelo y la captación y posterior translocación en los brotes después de tratarse durante unos días (Zhuang *et al.*, 2005).

En este proyecto se evaluarán 2 especies (*Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.*) como plantas fitorremediadoras en un suelo contaminado (Cuemanco) con el objeto de determinar la eficacia de un agente quelante para ayudar a movilizar los metales a la planta.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Metales pesados en el suelo**

Tradicionalmente se llama metal pesado a aquel elemento metálico que presenta una densidad superior a 5 g/cm<sup>3</sup>, aunque a efectos prácticos en estudios medioambientales se amplía esta definición a todos aquellos elementos metálicos o metaloides, de mayor o menor densidad, que aparecen comúnmente asociados a problemas de contaminación (Ortiz *et al.*, 2007).

Se consideran metales pesados al plomo, cadmio, cromo, mercurio, zinc, cobre, plata y arsénico, y constituyen un grupo de gran importancia ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos (Spain, 2003).



Aunque los metales pesados se encuentran en forma natural en la corteza terrestre, estos se pueden convertir en contaminantes si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas (INE, 2009). Actividades antropogénicas, como la minería, fundición, eliminación de residuos municipales y galvanización son las fuentes más importantes de contaminación por metales en el medio ambiente (Wang *et al.*, 2009). En lugares donde se han venido utilizando aguas residuales para el riego agrícola, se reporta una tendencia creciente en las concentraciones de metales en los suelos, por efecto en el tiempo (años) de uso de esta agua, donde las cantidades de metal que se extraen y se miden en estos suelos, se han asociado positivamente con el tiempo de uso de agua residual (Prieto *et al.*, 2009).

Los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías: quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo; asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos; pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; pasan a la atmósfera por volatilización y se movilizan a las aguas superficiales o subterráneas (Sierra, 2006). La toxicidad de los metales dependerá no sólo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del ecosistema (Abollino *et al.*, 2002).

Los organismos requieren en cantidades pequeñas (a nivel de trazas) metales como Co, Cu, Mn, Mo, V, Sr y Zn, aunque niveles altos de estos pueden perjudicarlos; otros metales como Hg, Pb y Cd no parecen tener un efecto benéfico sobre la biota, generando su bioacumulación (Cicerone *et al.*, 2006).

De acuerdo a la función biológica conocida de algunos metales pesados, se han sido clasificados en dos grandes grupos, oligoelementos (As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn) y metales pesados sin función biológica conocida (Cd, Hg, Pb, Sb, Bi).

## **2.2 Características generales de los metales pesados del estudio**

### **2.2.1 Cromo (Cr)**

El cromo es un elemento natural que se encuentra en rocas, animales, plantas y el suelo. Puede existir en varias formas diferentes. Las formas más comunes son el Cr (0), Cr (III) y Cr (VI). El Cr (0), se usa en la fabricación de acero. El Cr (VI) y (III) se usan en cromado, colorantes y pigmentos, curtido de cuero y preservación de madera. El Cr (III) es un elemento nutritivo esencial que ayuda al cuerpo a usar azúcares, proteínas y grasas. Respirar niveles altos de Cr (VI) puede producir irritación del revestimiento interno de la nariz, úlceras nasales, secreción nasal y problemas respiratorios tales como asma, tos, falta de aliento o respiración jadeada. El efecto principal que se observa en animales que ingieren compuestos de Cr (VI) es anemia, irritación, úlceras en el estómago y el intestino delgado. El contacto de la piel con ciertos compuestos de Cr (VI) puede producir úlceras en la piel (ATSDR, 2008).

### **2.2.1 Níquel (Ni)**

El níquel es un elemento natural muy abundante, se encuentra en todos los suelos; es liberado por emisiones volcánicas, también se encuentra en meteoritos y en el suelo de los océanos. Es liberado a la atmósfera por industrias que manufacturan o usan níquel, sus aleaciones o compuestos, también es liberado a la atmósfera por plantas que queman petróleo o carbón, y por incineradores de basura. También se presenta en desagües industriales y termina en el suelo o en el sedimento. La mayor parte del Ni se usa para fabricar acero inoxidable. Los compuestos de este metal se usan en niquelado, para colorear cerámicas, para fabricar baterías y como catalizadores, que aceleran las reacciones químicas. La reacción más común al contacto con Ni es un salpullido, personas sensibles a él, sufren ataques de asma luego de su exposición; quienes trabajan en refinerías de níquel o plantas que lo procesan, han sufrido bronquitis crónica y alteraciones del pulmón (ATSDR, 2005). El níquel puede llegar a ser menos absorbido en suelos,

pero puede ser fácilmente absorbido por las plantas y ser ligeramente tóxico para las mismas, siendo un elemento móvil en los tejidos de las plantas, acumulándose preferiblemente en las hojas y en las semillas (Prieto *et al.*, 2009). Si grandes cantidades del metal son absorbidos por las plantas, el efecto es tóxico. Resultados de la fitotoxicidad es la clorosis, débil crecimiento de las plantas, incluso pueden ir acompañadas de reducción en la absorción de nutrientes y los trastornos en el metabolismo de la planta (Poulik, 1999).

### **2.2.3 Plomo (Pb)**

El plomo existe naturalmente en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos. No es biodegradable y persiste en el suelo, aire, agua. Las fuentes de contaminación por Pb, son múltiples e incluyen a las fundidoras, las fábricas de baterías, algunas pinturas, la loza de barro vidriado cocida a baja temperatura y las gasolinas con tetraetilo de plomo (que se dejaron de usar en México en 1997). Cuando es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos. Puede resultar tóxico para los sistemas endócrino, cardiovascular, respiratorio, inmunológico, neurológico, y gastrointestinal además de poder afectar la piel y los riñones (ATSDR, 2007). Aunque el plomo no es un elemento esencial para las plantas, se absorbe fácilmente y se acumula en diferentes partes de las plantas. La absorción de plomo en las plantas está regulado por el pH, capacidad de intercambio catiónico de los suelos, así como por la exudación de las raíces y otros parámetros físico-químicos. El exceso de plomo provoca una serie de síntomas de toxicidad en las plantas como retraso del crecimiento, clorosis, y ennegrecimiento de las raíces; inhibe la fotosíntesis, altera la nutrición mineral y el balance de agua, afecta la estructura de la membrana y la permeabilidad (Akinci *et al.*, 2010).

#### **2.2.4 Zinc (Zn)**

El zinc está involucrado en diversos procesos biológicos en los organismos (Wang *et al.*, 2009). Se encuentra en el aire, el suelo y el agua, y está presente en todos los alimentos, siendo un elemento esencial en la dieta. La ingestión de muy poco zinc puede causar problemas, pero demasiado también es perjudicial. La ingestión de grandes cantidades, aun brevemente, puede causar calambres estomacales, náusea y vómitos. Si se ingieren grandes cantidades durante un período más prolongado pueden ocurrir anemia y disminución de los niveles del tipo de colesterol que es beneficioso. Los usos comerciales del Zn son revestimiento para prevenir corrosión, compartimientos de baterías secas, mezclado con otros metales sirve para fabricar aleaciones como el latón y bronce. Cierta cantidad de Zn es liberada al ambiente por procesos naturales, pero la mayor parte proviene de actividades humanas tales como la minería, producción de acero, combustión de petróleo e incineración de basura. Se adhiere al suelo, sedimentos y a partículas de polvo en el aire. Dependiendo del tipo de suelo, algunos compuestos de zinc pueden movilizarse al agua subterránea, lagos, arroyos y ríos. La mayor parte del Zn en el suelo permanece adherido a partículas de suelo y no se disuelve en agua (ATSDR, 2005). Al igual que otros metales pesados, exceso de Zinc puede tener efectos negativos sobre las plantas. A nivel de organismo, el exceso de Zinc inhibe la germinación de la semilla, crecimiento de las plantas, y causa clorosis. A nivel celular, el exceso de Zn puede alterar significativamente la actividad mitótica, afectan la integridad de la membrana y la permeabilidad, e incluso puede matar a las células (Wang *et al.*, 2009).

#### **2.2.5 Cobre (Cu)**

El cobre se presenta naturalmente en rocas, suelo, agua y aire. Es un elemento esencial para plantas y animales (incluso seres humanos), lo que significa que es necesario para la vida; por lo tanto se debe absorber cobre de los alimentos o bebidas que se ingieren, o del aire que respiran. El Cu se usa para fabricar

productos diferentes como alambres, cañerías y láminas de metal. Los compuestos de cobre son usados comúnmente en la agricultura para tratar enfermedades de las plantas, como el moho, para tratar agua, y como preservativos para alimentos, cueros y telas. Este metal es liberado por la industria minera, actividades agrícolas y de manufactura, por la liberación de aguas residuales a ríos y lagos; también es liberado desde fuentes naturales como volcanes, polvo que sopla el viento, vegetación en descomposición e incendios forestales. El cobre no se degrada en el medio ambiente. La inhalación de niveles altos de Cu puede producir irritación de la nariz y la garganta. La ingestión de niveles altos de este metal puede producir náusea, vómitos y diarrea. Cantidades muy altas pueden dañar el hígado y los riñones y puede causar la muerte (ATSDR, 2004).

### **2.2.6 Cadmio (Cd)**

El cadmio es un elemento natural de la corteza terrestre. Todos los suelos y rocas, incluso el carbón y abonos minerales, contienen una cantidad de este metal. El Cd, entra al suelo, agua y aire durante actividades industriales, de minería, durante la combustión de carbón y desechos domésticos, no se degrada en el ambiente, pero sí cambia de forma, no se corroe fácilmente y tiene muchos usos tales como baterías, pigmentos, revestimiento de metales y plásticos. Respirar niveles altos de Cd puede dañar gravemente los pulmones. Ingerir alimentos o tomar agua con niveles muy altos produce irritación grave del estómago causando vómitos y diarrea. La exposición prolongada a niveles más bajos de Cd en el aire, los alimentos o el agua produce acumulación de éste en los riñones y posiblemente enfermedad renal. Otros efectos de la exposición prolongada consisten en daño del pulmón y fragilidad de los huesos (ATSDR, 2008). En algunas plantas el Cd es fácilmente absorbido por las raíces y se traslada hacia las hojas. Se ha demostrado que este metal causa la inhibición del crecimiento de la raíz, tallo y las hojas; clorosis y finalmente la muerte de la planta debido a la

reducción de la actividad enzimática, fotosíntesis, respiración, la transpiración y la absorción de nutrientes (Manousaki *et al.*, 2008).

### **2.3 Contaminación por metales pesados**

En el año 2002 la liberación de metales pesados mundialmente llegó a 22.000 toneladas de cadmio, 93,900 toneladas de cobre, 783.000 toneladas de plomo y 1,35 millones de toneladas de zinc (Turgut *et al.*, 2005).

Los metales pueden alcanzar niveles de concentración que provocan efectos negativos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo como: reducción del contenido de materia orgánica, disminución de nutrientes, variación del pH generando suelos ácidos, amplias fluctuaciones en la temperatura, efectos adversos en el número, diversidad y actividad en los microorganismos de la rizósfera, dificultan el crecimiento de una cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, erosión del suelo, y la dispersión de los contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes, como consecuencia aumenta la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, afectando su desarrollo (Sierra, 2006).

Actualmente los estudios encargados de recuperar suelos contaminados se basa en estrategias que utilizan plantas (Nayek *et al.*, 2010).

### **2.4 Fitorremediación**

Cuando las tecnologías de remediación se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación (Carpena y Bernal, 2007); consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua (Prieto *et al.*, 2009).

La desintoxicación de contaminantes por fitorremediación se realiza empleando al menos uno de los siguientes mecanismos: rizofiltración, fitovolatilización, fitodegradación, fitoestabilización y fitoextracción, siendo solo los dos últimos relevantes para la fitorremediación de metales en el suelo (López *et al.*, 2005).

Rizofiltración: Técnica que usa raíces de plantas para descontaminar agua superficial, subterránea o efluentes líquidos contaminados con metales pesados, toxinas orgánicas, entre otros elementos. Las plantas que se utilizan con este fin se cultivan en invernaderos, con las raíces sumergidas en agua, en lugar de suelo. Cuando el sistema radicular de la planta está bien desarrollado, sus raíces se colocan en contacto con el agua o efluente a tratar. A medida que las raíces se van saturando en agua y contaminantes se van cortando y eliminando. Es una de las opciones que presenta mejor relación de costo-beneficio respecto a otros métodos empleados para el tratamiento de efluentes líquidos (Guevara *et al.*, 2009).

Fitovolatilización: Se produce a medida que las plantas en crecimiento absorben agua junto con los contaminantes orgánicos solubles. Algunos de los contaminantes pueden llegar hasta las hojas y evaporarse o volatilizarse a la atmosfera (López *et al.*, 2005). Algunas plantas son capaces de volatilar ciertos contaminantes, como mercurio y selenio, contenidos en suelos, sedimentos o agua. Tales contaminantes son absorbidos, metabolizados, transportados desde su raíz a sus partes superiores y liberados a la atmósfera en formas volátiles, menos tóxicas o relativamente menos peligrosas en comparación con sus formas oxidadas (Núñez *et al.*, 2004).

Fitodegradación: Se basa en el uso de plantas para degradar o transformar en sustancias menos tóxicas diversos tipos de contaminantes orgánicos como hidrocarburos aromáticos polinucleares, hidrocarburos totales del petróleo, plaguicidas (herbicidas, insecticidas y fungicidas), compuestos clorados, explosivos y surfactantes (detergentes). A través de reacciones enzimáticas que llevan a cabo plantas y microorganismos en la rizósfera, es decir, la zona del suelo estrechamente asociada con las raíces de las plantas, dichos contaminantes son

parcial o completamente degradados o transformados. De esta manera son asimilados por las plantas y secuestrados en sus vacuolas o fijados a estructuras celulares insolubles, como la lignina (Núñez *et al.*, 2004).

Fitoestabilización: Uso de plantas para inmovilizar contaminantes en el suelo, sedimentos y lodos a través de su absorción y acumulación en la raíz, absorción a la raíz o precipitación en la rizósfera. Por medio de este proceso se reduce la movilidad de los contaminantes y previene la migración de los mismos al agua o al aire; además disminuye la biodisponibilidad de los metales para su entrada a la cadena alimenticia. Existen reportes de la aplicación de esta técnica en sitios contaminados con Pb, Cd, As, Cr, Cu, Hg y Zn (Wong, 2003).

## **2.5 Fitoextracción y EDTA**

También llamada fitoacumulación, la fitoextracción es el uso de plantas para extraer metales de los suelos (Nowosielska, 2003) se da por la absorción de los contaminantes por la raíz de la planta y su translocación a las partes superiores de la misma (Sung *et al.*, 2011). Las plantas se distribuyen en el sitio contaminado y transcurrido un tiempo, se cosechan para ser incineradas; si los metales tienen valor comercial pueden ser extraídos de las cenizas. El procedimiento se realiza tantas veces como sea necesario para descender hasta niveles permisibles; se tratan contaminantes como Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn (Lasat, 2002). El tiempo requerido para este procedimiento depende de la concentración y tipo de contaminante(s), de la duración del periodo de crecimiento y de la eficiencia de remoción de la especie utilizada y puede tomar entre uno y 20 años (Vara y de Oliveira, 2003). Para que la fitoextracción trabaje de manera eficiente, las plantas necesitan crecer vigorosamente y saludable, que no es tan sencillo en suelos contaminados. Por otra parte, las plantas deben tener algunos rasgos fundamentales: capacidad de acumular el metal (s) destinados a extraer de preferencia en las partes aéreas, una alta tolerancia a los metales (s), un crecimiento rápido y alto rendimiento de biomasa, el cultivo se debe cosechar fácilmente (Wei *et al.*, 2006).



Con el fin de acelerar el proceso de fitoextracción, quelantes como el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) han sido utilizados en los suelos (Sung *et al.*, 2011), los agentes quelantes como el EDTA se han estudiado para mejorar la asimilación de los metales por las plantas (Chen *et al.*, 2004). Muchos estudios se han realizado con EDTA para la fitoextracción de Pb, Zn y Cd en los suelos contaminados. Se ha reconocido que el EDTA es uno de los productos químicos más eficaces en la fitodisponibilidad, captación y posterior translocación de Pb del suelo a los brotes de las plantas. También se encontró que estimula la translocación de Cd desde la raíz al tallo (Zhuang *et al.*, 2005).

## **2.6 Plantas fitorremediadoras**

Las plantas denominadas fitorremediadoras, poseen como atributos ideales la capacidad para acumular el (los) metal (es) de interés, preferiblemente en la parte superior de la planta; son tolerantes a la concentración del metal acumulado; crecen rápido; generan elevada producción de biomasa; resultan fácilmente cosechables y contienen sustancias que impide que los herbívoros las consuman, para prevenir la transferencia de metales pesados a la cadena alimenticia (Garbisu y Alkorta, 2001). Dentro de las plantas fitorremediadoras destacan las plantas llamadas hiperacumuladoras (Lasat, 2002). Por definición, estas plantas deben acumular al menos 100 µg/g (0.01 % peso seco) de Cd y As; 1000 µg/g (0.1 % peso seco) de Co, Cu, Cr, Ni y Pb; y 10 000 µg/g (1.0 % peso seco) de Mn (Delgadillo *et al.*, 2011). La capacidad de las plantas para bioacumular metales y otros posibles contaminantes varía según la especie vegetal y la naturaleza de los contaminantes. Estas diferencias en la absorción de metales pueden ser atribuidas precisamente a la capacidad de retención del metal en cuestión, por el suelo de cultivo y a la interacción planta-raíz-metal y al metabolismo vegetal propio (Prieto *et al.*, 2009).

### 3. Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

En el centro y norte de México la alfalfa es un cultivo muy popular entre los agricultores teniendo un papel muy importante en la producción de leche en estabulación y en la elaboración de concentrados alimenticios para aves, ganado



Figura 1. *Medicago sativa* L.

de engorda y equinos. Se estima que se cultivan alrededor de 300,000 hectáreas de alfalfa bajo condiciones de riego en todo el país, sobresaliendo los estados de Guanajuato y Chihuahua como líderes en superficie sembrada. Otros estados productores de forraje de alfalfa son Hidalgo, Puebla, Querétaro, Michoacán, Jalisco y Baja California (Inifap, 2000). La importancia del cultivo de la alfalfa va desde su interés como fuente natural de proteínas, fibra, vitaminas y minerales; así como su contribución paisajística y su utilidad como cultivo conservacionista de la fauna.

#### Clasificación científica

Reino: *Plantae*, División: *Magnoliophyta*, Clase: *Magnoliopsida*, Subclase: *Rosidae*, Orden: *Fabales*, Familia: *Fabaceae*, Subfamilia: *Faboideae*, Tribu: *Trifolieae*, Género: *Medicago*, Especie: *M. sativa*.

La alfalfa es una planta perenne, vivaz y de porte erecto; puede alcanzar una altura de hasta 1 m. El crecimiento de la alfalfa debe ser por lo menos 150 días. El pH óptimo del cultivo es de 7.2, es considerada como moderadamente tolerante a la concentración de sales en el suelo en sus primeros estados, aumentando su resistencia a los cloruros a medida que va madurando. El factor limitante en su cultivo es la acidez, excepto en la germinación, que puede soportar hasta pH de 4.

Prefiere suelos livianos (arenosos, franco limosos) profundos y con buen drenaje (D'Attellis, 2005).

En cuanto a investigaciones utilizando *Medicago sativa L.*

Bonfranceschi *et al.*, (2009), evaluarón la capacidad de la alfalfa en la extracción de metales (Cd, Ni y Cr con EDTA) en condiciones hidropónicas, los resultados muestran que la alfalfa puede crecer en presencia de altas concentraciones de metales pesados, de manera eficaz puede capturar y trasladar los metales a las partes aéreas; aunque no es una especie hiperacumuladora, puede ser usada como fitoextractora para los metales del estudio.

Singh *et al.*, (2009), bajo condiciones in vitro, estudiaron la absorción de cadmio por *Medicago sativa*, donde esta especie se vio afectada en su crecimiento en concentraciones elevadas de Cd, mientras que la menor concentración de cadmio fue captada sin efectos sobre su crecimiento. La mayor concentración del metal fue localizado en la raíz y en menor cantidad en los brotes. La investigación mostro que *Medicago* captó entre 80-85% de cadmio del medio de cultivo, por lo que se recomienda para remediar medios contaminados con Cadmio.

Míreles *et al.*, (2004), evaluaron la absorción de Alfalfa para algunos metales como Cu, Zn, Ni, Pb y Cr; donde el mayor contenido de cromo, níquel, cobre y plomo quedó en la raíz y de zinc en el tallo.

Sung *et al.*, (2011), encontrarón que la Alfalfa (*Medicago sativa L.*) tolera los metales pesados y crece bien en suelos contaminados, demostrando con su investigación que esta planta tiene la capacidad de tolerar Cobre, Níquel, Cadmio, Cromo, Plomo y Zinc.

#### 4. Pasto bermuda (*Cynodon dactylon* L.)

Se cultiva y usa como pasto de césped, como forraje, para estabilizar orillas de



carreteras y canales. Se encuentra como dominante sobre todo en sitios secos. Su distribución en México es en Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán (Villaseñor y Espinoza, 1998).

Figura 2. *Cynodon dactylon* L.

#### Clasificación científica

Reino: *Plantae*, División: *Magnoliophyta*, Clase: *Liliopsida*, Orden: *Poales*, Familia: *Poaceae*, Subfamilia: *Chloridoideae*, Tribu: *Cynodonteae*, Género: *Cynodon*, Especie: *C. dactylon*.

El pasto es una hierba perenne, con un tamaño de 10 a 30 cm de alto, pero puede ser más largo, ya que crece con estolones (Villaseñor y Espinoza, 1998).

El ciclo completo (desde la germinación hasta la producción de semillas) es de alrededor de cuatro meses. Crece en pH entre 5 y 8. Soporta bien los encharcamientos y la salinidad. El riego debe ser abundante en época cálida; la sequía detiene su crecimiento. Tolerancia a inundaciones temporales. Prospera en terrenos pobres y arenosos (Halvorson y Guertin, 2003).

En cuanto a investigaciones utilizando *Cynodon dactylon* L.

Abou-Shanab *et al.*, (2007), estudiaron la captación de metales pesados por algunos cultivos en suelo que contienen cantidades moderadas o altas de metales pesados. El pasto bermuda acumuló mayor concentración de Plomo, Zinc, Cobre en la raíz y de Cromo en los brotes de la planta donde el suelo es rico en este metal.

Del Rio *et al.*, (2002), identificaron especies capaces de crecer en suelos contaminados con metales, concluyendo que Pasto bermuda es una de las especies que mas predominó en una zona de mina, presentando concentraciones significativamente altas de plomo en comparación con otras especies. Por lo que esta planta podría ser utilizada en la remediación de la zona afectada.

Sekabira *et al.*, (2011) presentaron una investigación que reveló que *Cynodon dactylon* es una especie candidata para la fitoestabilización de Pb, Cd, Cu, Zn y Mn en los ecosistemas de drenaje urbano. Además produce alta cantidad de biomasa.

## 5. JUSTIFICACIÓN

Es importante conocer el potencial fitorremediador, de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.*, con ayuda de un agente quelante (EDTA), ya que hay escasos trabajos de investigación, sobre estas especies que tienen valor comercial y son regadas con aguas negras en diferentes partes de la República. Por este motivo, se empleó suelo contaminado de Cuemanco ya que sus canales son llenados con agua tratada de la planta del Cerro de la Estrella y emplean el sistema de chinampas (sedimento del fondo de los canales) y se ha observado una baja en la producción de hortalizas. De no remediarse esta situación, pueden presentarse problemas serios por los efectos tóxicos de los metales pesados sobre animales, plantas y la salud humana.

## 6. PROBLEMÁTICA A RESOLVER

¿La Alfalfa y el Pasto bermuda serán fitoextractores de metales pesados?

¿El EDTA ayudara a la quelación de los metales pesados del suelo para la extracción y posterior translocación de estos a la parte vegetativa de las plantas?

## 7. HIPÓTESIS

*Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.* realizarán una extracción mayor de metales pesados como níquel, zinc, plomo, cobre, cadmio, cromo en raíz, tallo y hojas con el EDTA, que en los testigos sin EDTA.

## **8. OBJETIVOS**

### **8.1 Objetivo general**

Determinar la capacidad de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.* en la fitorremediación de suelo de Cuernavaca-Xochimilco, México contaminado con níquel, zinc, plomo, cobre, cadmio, cromo, con ayuda de un agente quelante (EDTA).

### **8.2 Objetivos particulares**

Evaluar el efecto de metales pesados contenidos en suelo de Cuernavaca en el desarrollo de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.*, en suelo con y sin EDTA.

Establecer la concentración total de metales pesados níquel, zinc, plomo, cobre, cadmio, cromo en suelo de Cuernavaca-Xochimilco, México sin y con EDTA antes y después de la cosecha.

Determinar la concentración de metales pesados en los diferentes órganos de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.*, desarrollados en suelo con y sin EDTA.

## 9. MATERIAL Y MÉTODO

### 9.1 Zona de colecta de suelo

En México, Cuemanco es uno de los principales canales de Xochimilco; este en la antigüedad era abastecido con el agua proveniente de los manantiales naturales, sus aguas servían para regar los cultivos y eran morada de aves nativas y migratorias. Surtía de agua potable a la capital, pero la sobreexplotación del agua agotó el caudal de los manantiales, provocando hundimiento en los terrenos y contaminación en las aguas del lago, poniendo en riesgo la supervivencia de la flora, la fauna endémica y nativa de esta región. El agua de los manantiales que abastecían a los canales de la Zona Lacustre de Xochimilco hacia la ciudad de México, fue sustituida por aguas residuales semitratadas con un efecto grave de contaminación, así como la introducción de especies exógenas y la sobreexplotación. Lo que ha provocado una alta contaminación de los sedimentos y suelo con metales pesados.

El lago está conformado por diferentes canales, entre los principales se encuentra Cuemanco, ubicado en la Delegación Xochimilco; es sobre todo una llanura rodeada de lagos y con abundante fauna. Se encuentra dentro del D.F., con una población de 404.458 habitantes, de acuerdo con el II Censo de Población realizado por el INEGI en 2005. Cuenta con una extensión de 68 hectáreas.

La flora característica del sitio es Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), agapando (*Agapanthus umbellatus*), dedo moro (*Mesembryanthemum educe*). En cuanto a fauna está presente el Pato tepalcate (*Oxyura jamaicensis*), el cernícalo (*Falco tinnunculus*), el garzón blanco (*Ardea alba*). El Ahuejote (*Salix bonplandiana*) es importante en el ecosistema de Xochimilco porque controla la erosión del suelo y forma barreras rompe vientos para que protejan los cultivos. Presenta asentamientos irregulares, inadecuadas prácticas productivas (utilización de químicos, nivelación de terrenos con materiales contaminantes, etc.), mal manejo y baja calidad del agua y altos niveles de contaminación. La erosión en chinampas



se da por la pérdida de vegetación y ganadería extensiva. También hay salinización de suelos y alta presencia de plagas.

El lago de Xochimilco se encuentra a  $19^{\circ}02'37''$  de latitud norte y  $99^{\circ}15'37''$  de longitud oeste de Greenwich, a una altura de 2246 msnm. Esta zona posee un clima, de acuerdo a la clasificación de Köppen modificado por García (1981), corresponde a templado con lluvias en verano. Su temperatura media anual es de  $12.7^{\circ}$  a  $36^{\circ}$  °C, con mínimas de hasta  $8^{\circ}$  °C y máximas de  $31^{\circ}$  °C. La precipitación media anual es de 891 mm; los vientos dominantes son del SE y alcanzan su intensidad en el mes de febrero, marzo, y abril; y el periodo de lluvias abarca de mayo a octubre; las heladas inician en noviembre y continúan hasta enero y febrero.



Fig. 3. Vista de la zona de colecta de suelo.

## 9.2 Colecta del suelo

Se seleccionaron al azar dos chinampas en las cuales se practica la agricultura, ambas situadas en el canal de Cuemanco. Una de ellas fue la chinampa llamada “El Sabino” ubicada a una latitud de 19° 16.648 norte y 99° 05.522 oeste; y otra fue una chinampa donde cultivan romerito, ubicada a una latitud de 19° 16.632 norte y a 99° 05.798 oeste, en ambas chinampas se colectó un saco de suelo de distintos puntos de las chinampas elegidos al azar. El suelo colectado se secó al aire libre siendo colocado en el invernadero de la FES Zaragoza, UNAM; sobre pliegos de cartón durante un día. Posteriormente se preparó una mezcla compuesta.

## 9.3 Preparación del suelo

El suelo fue esterilizado en autoclave para evitar posible emergencia de otras especies vegetales. Para evitar la compactación del suelo se hizo una mezcla con arena y tezontle relación 3:2:1.

Se utilizó suelo de Cuemanco con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) para el cual se añadió 0.1 g de EDTA por kilogramo de suelo y suelo de Cuemanco sin EDTA que sirvió como testigo.

Se emplearon 60 recipientes de PVC de 25 cm de altura y 10 cm de diámetro para el cultivo de *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.*

## 9.4 Especies vegetales

Se utilizaron semillas comerciales de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.* por ser plantas tolerantes a metales como Cobre, Níquel, Cadmio, Cromo, Plomo y Zinc (Sung *et al.*, 2011; Bytyqi y Sherifi, 2010; Del Rio *et al.*, 2002; Sekabira *et al.*, 2011).

Las semillas fueron desinfectadas utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 5%.

La germinación de las semillas de *Medicago* se realizó en cajas de Petri con papel filtro y algodón a temperatura ambiente. Una vez que las plántulas presentaron las primeras hojas verdaderas se hizo el trasplante. Las semillas de Pasto bermuda fueron sembradas de forma directa.

Se utilizaron 30 ejemplares para cada especie, 15 de ellos recibieron el tratamiento con EDTA, mientras los otros 15 ejemplares fueron los testigos con solo suelo de Cuemanco.

Las plantas fueron regadas de forma manual con agua destilada y se mantuvo a capacidad de campo.

## 9.5 Variables evaluadas

Se evaluó la altura de las plantas semanalmente; la concentración de metales pesados en raíz, tallo y hoja después de la cosecha y el factor de translocación que se calcula de acuerdo a la ecuación:  $Tf = C_{\text{Tallos}} / C_{\text{Raíces}}$ , donde C representa la concentración del metal en tallos y raíces (Shu, *et al.*, 2002).

## 9.6 Análisis de planta

Después de 23 semanas en el caso de *Medicago sativa L.* y 21 semanas *Cynodon dactylon L.* fueron extraídas las plantas de cada tratamiento; a cada ejemplar se le retiró el exceso de suelo evitando romper la raíz, se midió el total de la planta, posteriormente se midió raíz y parte aérea, se pesó y se lavó con agua destilada para retirar el suelo restante y polvo que había en parte aérea; se dividieron los órganos de las plantas en raíz, tallo, hoja y se depositaron en bolsas de papel previamente etiquetadas; se llevaron a estufa a 50 °C para deshidratarlas hasta peso constante. Una vez que se deshidrataron cada uno de los diferentes órganos

(raíz, tallo, hoja), se pasaron a un molino eléctrico hasta obtener una muestra completamente triturada.

Para la digestión de la planta se hizo una mezcla triácida (Radojević y Bashkin, 1999).

La concentración de metales pesados se determinó mediante espectrofotometría de absorción/emisión atómica Equipo Spectra 200 Marca Varian (Zapata y Galván 2004).

### **9.7 Análisis de suelo**

El suelo se secó a temperatura ambiente., tamizó y almacenó para emplearlo en la determinación de los siguientes parámetros físicos y químicos de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana: NOM-021-RECNAT-2000 (pH relación 1:2, con H<sub>2</sub>O pHmetro; Conductividad eléctrica por conductímetro; Materia orgánica por método de Walkey-Black; Textura por método de Bouyoucos; Nitrógeno por método de Kjeldhal; Fosforo método de Olsen; Densidad real por método del picnómetro; Densidad aparente por método de la probeta; determinación de bases intercambiables con acetato de amonio).

Para el procedimiento de digestión se utilizó la Técnica de agua regia (Radojević y Bashkin, 1999).

La concentración de metales pesados en planta y suelo (antes y después de la cosecha) se determinó por espectrofotometría de absorción/emisión atómica Equipo Spectra 200 Marca Varian (Zapata y Galván 2004).

#### **Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados en el programa estadístico Statgraphics plus versión 5.0, utilizando el método de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD).

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 10.1 Análisis físicos y químicos del suelo

Cuadro 1. Resultados de las pruebas físicas y químicas

	Suelo sin EDTA (SC)	Suelo con EDTA (SE)	Suelo solo donde se cultivo Alfalfa (AC)	Suelo EDTA donde se cultivo Alfalfa (AE)	Suelo solo donde se cultivo Pasto (PC)	Suelo EDTA donde se cultivo Pasto (PE)
pH	7.4	7.4	7.4	7.7	7.7	7.5
C.E (mS/cm)	2.8	0.8	0.6	0.7	0.6	0.8
% Materia Orgánica	12.5	7.7	10.1	11.5	7.7	11.0
% Nitrógeno total	0.42	0.49	0.14	0.14	0.18	0.21
Textura	Franco limoso	Franco limoso	Franco limoso	Franco limoso	Franco limoso	Franco limoso
Fosforo (mg kg <sup>-1</sup> )	13.5	15.3	13.2	15.3	10.4	13.2
Densidad real g/cm <sup>3</sup>	1.8	2.1	2.0	2.2	2.2	2.0
Densidad Aparente g/cm <sup>3</sup>	1.02	1.15	1.26	1.20	1.23	1.45
Ca (Cmol (+) kg <sup>-1</sup> )	0.21	0.13	0.09	0.12	0.11	0.12
Mg (Cmol (+) kg <sup>-1</sup> )	0.21	0.10	0.06	0.07	0.05	0.05
K (Cmol (+) kg <sup>-1</sup> )	0.06	0.06	0.05	0.04	0.04	0.05
Na (Cmol (+) kg <sup>-1</sup> )	0.08	0.18	0.03	0.16	0.04	0.05

El pH, es una propiedad química del suelo que tiene un efecto importante en el desarrollo de los seres vivos (incluidos microorganismos y plantas). Los valores de pH obtenidos en este estudio se encuentran entre 7.4 y 7.7 (Cuadro 1), considerados como medianamente alcalinos (NOM-021-RECNAT-2000). El pH, en suelo sin EDTA, de acuerdo a Márquez y Quiroga (2000), se encuentra dentro del rango óptimo para un buen desarrollo para Alfalfa (*Medicago sativa L.*) (6.5-7.5). En el tratamiento con EDTA, el pH, está en el rango para una producción media (Márquez y Quiroga 2000) para la planta (7.5 - 8.5). El pH, en los tratamientos con y sin EDTA (Cuadro 1), está dentro del rango óptimo para un buen desarrollo (5.0 – 8.0) para *Cynodon Dactylon*, (Halvorson y Guertin, 2003).

La conductividad eléctrica, mide la facilidad con la que un medio acuoso transmite la electricidad y puede relacionarse directamente con la concentración de sales disueltas presentes en el suelo (Villegas *et al.*, 2007). En suelo sin EDTA (SC), se encontró como moderadamente salino, los demás tratamientos tuvieron efectos despreciables de salinidad, de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000. *Medicago sativa L.*, está catalogada como un cultivo moderadamente tolerante a la salinidad (Márquez y Quiroga, 2000), pero no a la acidez fuerte (Ayanz, 2007), es considerada como moderadamente tolerante a la concentración de sales en el suelo en sus primeros estados, aumentando su resistencia a los cloruros a medida que va madurando (D'Attellis, 2005). *Cynodon dactylon L.*, se caracteriza por tener excelente adaptación a suelos salinos (Halvorson y Guertin, 2003).

La materia orgánica (MO), tiene un efecto importante sobre las propiedades del suelo, formando agregados y dando estabilidad estructural, favorece la penetración del agua y su retención, disminuyendo la erosión, favorece la reserva de nutrientes para la vida vegetal (Julca *et al.*, 2006). La MO, presente en el suelo, contiene una fuerte proporción de metales pesados, en él juegan un papel importante en el proceso de nutrición vegetal. Los suelos muy pobres en MO, generalmente, son pobres en metales pesados; por lo tanto, la MO, que presenta metales pesados, es la fuente más importante de minerales esenciales para la planta, ya que estos son retenidos como coloides orgánicos e inorgánicos y de

esta manera son disponibles para los sistemas biológicos (Lugo *et al*, 2006). El porcentaje de materia orgánica, de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, en suelo sin EDTA (SC), en suelo con EDTA donde se cultivo *Medicago sativa* (AE) y suelo con EDTA donde se cultivo *Cynodon dactylon* (PE), se encuentra alto; en suelo con EDTA (SE), en suelo sin EDTA donde se cultivo *Medicago sativa* (AC) suelo sin EDTA donde se cultivo *Cynodon dactylon* (PC), tienen un porcentaje medio.

El nitrógeno (N), es el principal macro elemento que las plantas requieren para su crecimiento y desarrollo. Interviene en diferentes procesos metabólicos y forma parte de numerosas biomoléculas. Las principales fuentes de nitrógeno: son la atmósfera y la materia orgánica. El porcentaje de nitrógeno, en los tratamientos, SC y SE, fueron muy altos; AC y AE, fue medio; PC y PE, fue alto, (NOM-021-RECNAT-2000). *Medicago sativa* obtiene el nitrógeno del aire, gracias a la asociación simbiótica con las bacterias de sus nódulos, pero, al principio, en el estado de plántulas, éstas necesitan el nitrógeno del suelo. Cuando el nitrógeno se encuentra en cantidades excesivas, producirán un efecto negativo al inhibir la formación de nódulos, pueden detener su crecimiento y su producción es menor. Por otro lado el aporte de nitrógeno produce un excesivo crecimiento vegetativo (D'Attellis 2005). Con excepción del Oxígeno, Hidrógeno y Carbono, *Cynodon dactylon*, utiliza más N que cualquiera de los otros elementos esenciales y comúnmente es el más deficiente en el suelo. El Nitrógeno, ayuda en el crecimiento, desarrollo y calidad de la planta, el N, en exceso o por deficiencia, afecta el crecimiento y densidad de las hojas, crecimiento de raíz, color, tolerancia al uso y el tráfico, y susceptible a distintas enfermedades, por calor, frío o sequía. Un crecimiento exuberante y un color verde muy oscuro no necesariamente indican que la planta este sana (Picasso, 2001).

La textura franco limosa de un suelo, posee una cantidad moderada de partículas finas de arena, solo una cantidad reducida de arcilla y más de la mitad de las partículas pertenecen al tamaño denominado limo. En estado seco, tienen

aparición aterronada, pero los terrones pueden destruirse fácilmente. Este suelo tiene permeabilidad media; compactación media; capacidad de almacenamiento de nutrientes, medio; capacidad de almacenamiento de agua medio-alto (Casanova *et al.*, 2004). *Medicago sativa*, crece satisfactoriamente en una amplia gama de tipos de suelo, preferentemente los livianos (arenosos, franco limosos) y profundos, sin capa impermeable y siempre con buen drenaje (D'Attellis 2005). *Cynodon dactylon*, está adaptado para una amplia gama de suelos, desde fértil, arenoso para suelos limosos o de limo a arcilla pesada, tanto cultivables y no cultivables, obtiene mejor crecimiento en un medio de suelo pesado que es húmedo y con buen drenaje (Halvorson y Guertin, 2003).

El fósforo (P), es el segundo elemento de importancia para las funciones nutricionales de las plantas, está presente en diversos compuestos que forman parte de los procesos de transferencia de energía: fotosíntesis, conversión de carbohidratos, la glucólisis, grasas y aminoácidos entre otros. El fósforo asimilable en todas las muestras de suelo, fue alto, (NOM-021-RECNAT-2000).

La densidad aparente de un suelo oscila generalmente entre valores de 1 a 1.8 g/cm<sup>3</sup>. Si la densidad aparente supera el valor de 1.8 g/cm<sup>3</sup>, los suelos se consideran compactos, impidiendo que las raíces penetren en éstos. En cambio en suelos con densidades intermedias, las raíces penetran fácilmente; contribuyendo así, a un crecimiento vegetativo más rápido de toda la planta, dando como resultados mayores rendimientos. La densidad aparente de los tratamientos del estudio va de 1.02 a 1.45 g/cm<sup>3</sup>. La densidad real, en los tratamientos va de 1.8 a 2.2 g/cm<sup>3</sup> (Cuadro 1).

Los resultados de Ca (Cmol (+) kg<sup>-1</sup>), Mg (Cmol (+) kg<sup>-1</sup>) y K (Cmol (+) kg<sup>-1</sup>) se interpretarán como muy bajos en todos los tratamientos (NOM-021-RECNAT-2000).



## 10.2 Concentración de metales pesados en suelo

Cuadro 2. Promedios de la concentración de metales pesados en suelo de Cuemanco.

Tratamiento	mg/Kg					
	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
Suelo sin EDTA (SC)	14	29.7	67	41.6	10.9	0.4
Suelo con EDTA (SE)	36.1	23.3	85	56	11.4	0.5
Suelo solo donde se cultivo Pasto (PC)	16.7	19.1	56.5	54.6	8.9	ND
Suelo EDTA donde se cultivo Pasto (PE)	35.2	18.2	124.5 <sup>k</sup>	50.8	9.3	0.5
Suelo solo donde se cultivo Alfalfa (AC)	13.2	23.3	46	11.6	9.8	0.1
Suelo EDTA donde se cultivo Alfalfa (AE)	16.5	16.7	68.5	9.9	10.2	ND
Rango normal en suelo <sup>(a)</sup>	5-1500	2-750	2-300	1-900	2-250	0.01-2.0
Concentración crítica en suelo <sup>(b)</sup>	75-100	100	100-400	70-400	60-125	3-8

(a) Los datos proceden principalmente de Bowen, (1979); (b) Concentración crítica total en suelo. Kabata-Pendias, A. and Pendias H., (1984); ND= no detecto; <sup>k</sup> valor crítico de acuerdo a Bowen, HJ. (1979).

Cromo, Plomo, Zinc, Cobre y Cadmio, presentarán las concentraciones más altas (Cuadro 2 y Figura 4) en el tratamiento de suelo con EDTA (SE) en comparación con el tratamiento sin EDTA (SC).

El Plomo, en el tratamiento de suelo con EDTA donde se cultivo *Cynodon dactylon* (PE), se considera como toxico de acuerdo a Kabata-Pendias y Pendias (1984). En los demás tratamientos, los metales estaban en un rango normal (Cuadro 2). En el suelo con EDTA donde se cultivo *Medicago sativa* (AE), presentó Cromo, Plomo y Cobre en concentración mayor (Figura 4), que en suelo sin EDTA donde se cultivo *Medicago sativa* (AC); en el tratamiento PE, las concentraciones de Cromo, Plomo, y Cobre fueron más altas que en el tratamiento PC. Un pH básico representa una baja movilidad en el suelo (Abou-Shanab *et al.*, 2007); a pesar que estos metales tienen una movilidad entre media y muy baja, debido al pH medianamente alcalino (7.4-8.5) del suelo (Plant y Raiswell, 1983), la adición del quelante (EDTA), mejoro la capacidad de los metales para movilizarse en él, por lo que se incrementa la concentración de estos en el suelo (Huang *et al.*, 1997).

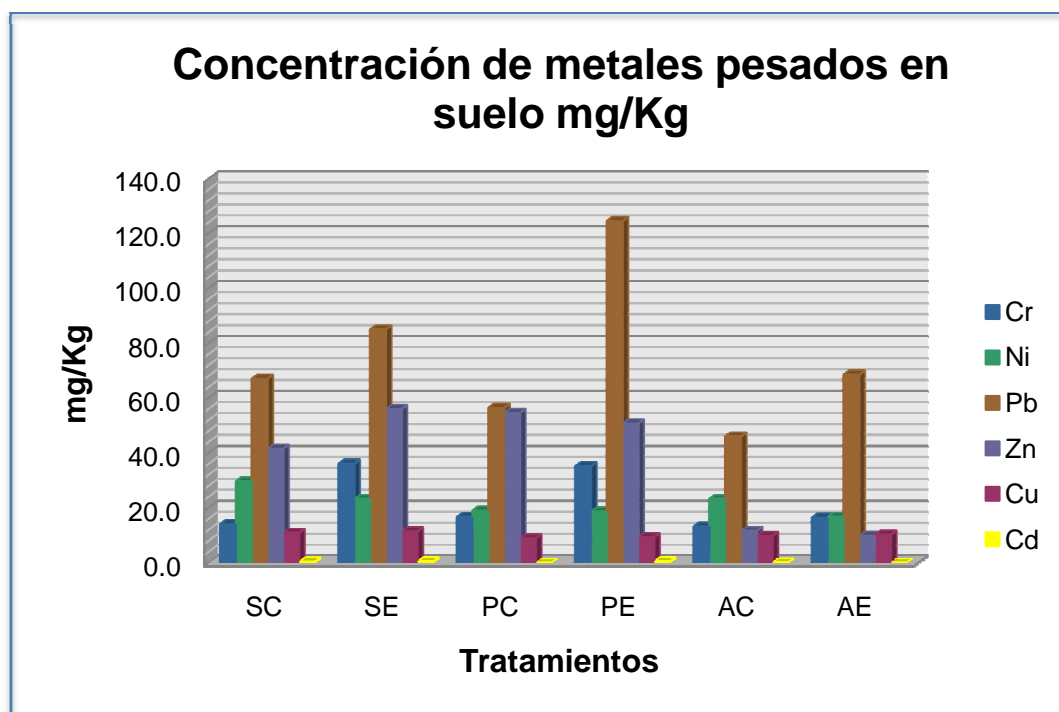


Fig. 4. Concentración de metales pesados en suelo de Cuernavaca

(SC) Suelo sin EDTA, (SE) Suelo con EDTA, (PC) Pasto sin EDTA, (PE) Pasto con EDTA, (AC) Alfalfa sin EDTA, (AE) Alfalfa con EDTA.

### 10.3 Crecimiento de las especies vegetales (Desarrollo)

*Medicago sativa* L. a lo largo del estudio presentó un crecimiento similar en ambos tratamientos (AE y AC). Al terminar el periodo vegetativo en suelo sin EDTA alcanzó una altura de 29 cm y con EDTA 28.9 cm (Figura 5); de acuerdo al análisis estadístico realizado, con un nivel de confianza del 95% de acuerdo al método de Fisher (LSD) (ver anexo), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las alturas de los tratamientos; la altura se vio afectada negativamente, ya que ambos tratamientos quedaron por debajo de la mencionada por algunos autores que es entre 40 y 60 cm (D'Attellis, 2005; Rebuffo *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2009). Cuando las condiciones del medio no son adecuadas, *Medicago sativa* tiene la capacidad de detener su crecimiento (Ayanz, 2007).

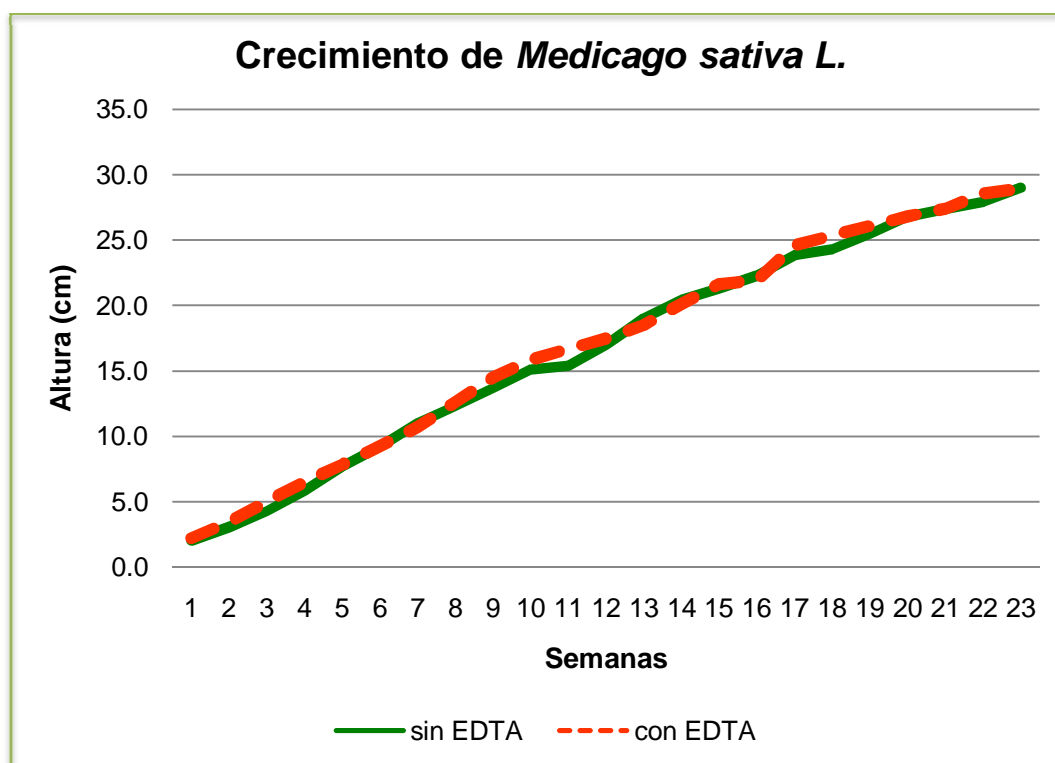


Fig. 5. Altura promedio de los ejemplares de *Medicago sativa* L. a las 23 semanas de tratamiento en suelo de Cuemanco.

*Cynodon dactylon L.* durante el estudio presentó alturas semejantes para ambos tratamientos (PE y PC), al final, llegó a una altura de 36.6 cm en suelo sin EDTA y 34.8 cm en suelo con EDTA; con respecto al análisis estadístico realizado, con un nivel de confianza del 95% de acuerdo al método de Fisher (LSD) (ver anexo), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las alturas de los tratamientos. El crecimiento de Pasto bermuda no se vio afectado, alcanzó una altura semejante a la reportada en la descripción de esta especie (Herbotecnia, 2005); ya que por lo común crece de 10 a 14 cm, aunque puede desarrollarse hasta los 40 cm (Halvorson y Guertin, 2003).

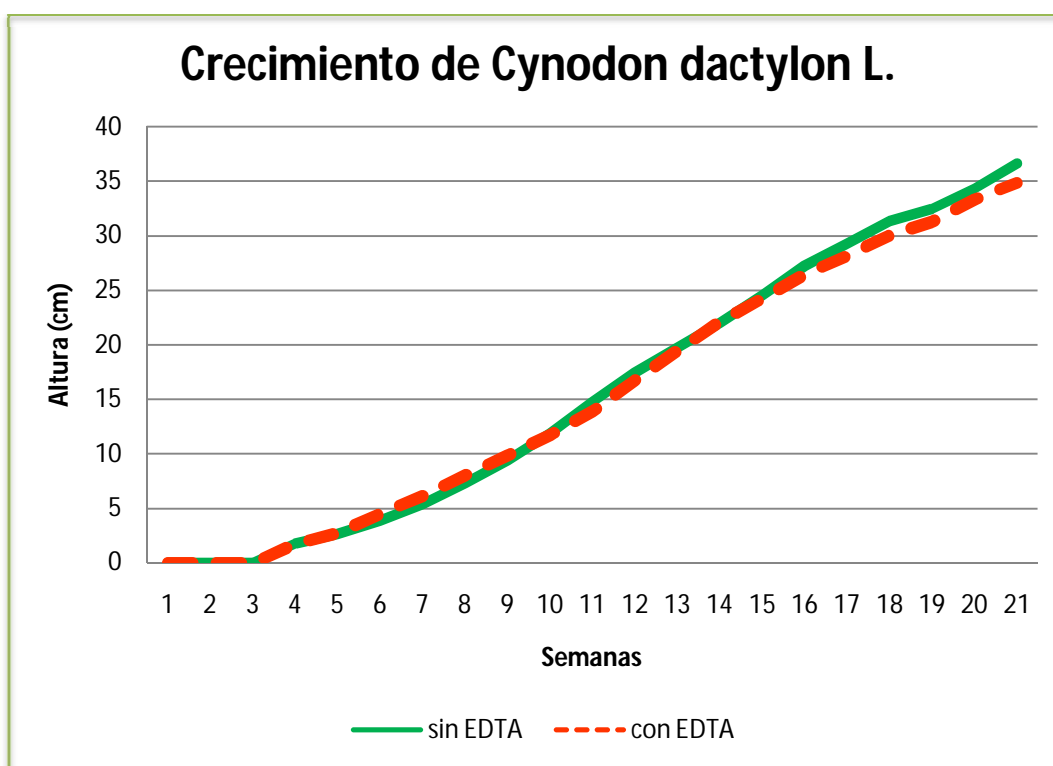


Fig. 6. Altura promedio de los ejemplares de *Cynodon dactylon L.* a las 21 semanas de tratamiento

La concentración de todos los metales del estudio (Cr, Ni, Pb, Zn, Cu y Cd) en suelo con y sin EDTA disminuyeron después de la cosecha de *Medicago sativa*; Ni y Cu presentarán el mismo comportamiento para el caso de *Cynodon dactylon*. La reducción de la concentración de los metales pesados en el suelo se atribuye a su absorción por las plantas (Ciura *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2009).

## 10.4 Concentración de metales pesados en planta

Cuadro 3. Promedios de la concentración de metales pesados en diferentes órganos de *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.*

Muestra	mg/Kg					
	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
Parte aérea Pasto sin EDTA	10.5 <sup>k</sup>	5.5	24.5	28.5	3.0	0.4
Parte aérea Pasto con EDTA	19 <sup>k</sup>	4.85	54 <sup>k</sup>	35.4	7.3	1.0
Hoja Alfalfa sin EDTA	10.6 <sup>k</sup>	4.6	38 <sup>k</sup>	24.9	4.4	1.6
Hoja Alfalfa con EDTA	31 <sup>k</sup>	6.0	39.5 <sup>k</sup>	29.8	4.0	1.7
Tallo Alfalfa sin EDTA	10.5 <sup>k</sup>	0.8	34.5 <sup>k</sup>	11.3	0.3	2
Tallo Alfalfa con EDTA	11 <sup>k</sup>	1.1	65 <sup>k</sup>	23.2	2.4	3.9
Raíz Pasto sin EDTA	18 <sup>k</sup>	11.7 <sup>k</sup>	66.7 <sup>k</sup>	29.5	6.5	4.4
Raíz Pasto con EDTA	20.2 <sup>k</sup>	13.9 <sup>k</sup>	63.3 <sup>k</sup>	29.6	10.7	3.4
Raíz Alfalfa sin EDTA	43.7 <sup>k</sup>	19 <sup>k</sup>	31.5 <sup>k</sup>	9.6	2.5	0.8
Raíz Alfalfa con EDTA	47.6 <sup>k</sup>	17.0 <sup>k</sup>	38.5 <sup>k</sup>	10.32	3.8	2.6
Alfalfa en suelo sin EDTA	64.8 <sup>k</sup>	24.4 <sup>k</sup>	104 <sup>k</sup>	45.8	7.2	4.4
Alfalfa en suelo con EDTA	89.6 <sup>k</sup>	24.1 <sup>k</sup>	143 <sup>k</sup>	76.2	10.2	8.2 <sup>k</sup>
Pasto en suelo sin EDTA	28.5 <sup>k</sup>	17.2 <sup>k</sup>	91.2 <sup>k</sup>	58	9.5	4.8
Pasto en suelo con EDTA	39.2 <sup>k</sup>	18.75 <sup>k</sup>	117.3 <sup>k</sup>	65	18	4.4
Rango normal en plantas <sup>(a)</sup>	0.03-14	0.02-5	0.2-20	1-400	5-20	0.1-2.4
Concentración crítica en plantas <sup>(b)</sup>	5-30	10-100	30-300	100-400	20-100	5-30

(a) Los datos proceden principalmente de Bowen, (1979). (b) Concentración crítica total en planta. Kabata-Pendias and Pendias (1984) <sup>k</sup> valor crítico de acuerdo a Bowen, HJ. (1979).

La fitoextracción inducida basada en la aplicación de agentes quelantes, tales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ha sido probado por varios investigadores con diferentes especies vegetales, para aumentar la biodisponibilidad de metales pesados, mejorando así la absorción por la planta y la translocación de metales pesados de las raíces a parte aérea, (Luo *et al.*, 2005; Hernández-Allica *et al.*, 2007; Sinhal *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2011).

En este estudio se obtuvo que en ambos tratamientos (PC y PE) *Cynodon dactylon* presentó concentración crítica de Cr en raíz, tallo y hoja (Kabata-Pendias y Pendias, 1984). Este metal se acumuló en su mayoría en raíz en el tratamiento con EDTA en comparación sin EDTA (Cuadro 3 y Figura 7), el Cr se movilizó también hacia parte aérea pero en menor concentración. Resultado similar al de Shuaibu *et al.*, (2012) en el cual *Eleusine indica* L. perteneciente a la misma familia (*Poaceae*) que *Cynodon dactylon* L., acumuló mayor concentración de Cr en raíz con la adición de EDTA en suelo.

Los órganos (raíz, tallo, hoja) de *Medicago sativa* presentaron una concentración crítica de Cr (Kabata-Pendias y Pendias, 1984) en AC y AE. La raíz en suelo con EDTA, fue el tejido que mas acumulo Cr (Cuadro 3 y Figura 7), él metal también se translocó hacia hoja y tallo. En otras especies sucede lo mismo, como en *Helianthus annuus* donde el Cr se acumula más en raíz con la adición de EDTA al suelo (Chen y Cutright, 2001). En *Brassica juncea*, la absorción de Cr en parte aérea aumenta significativamente con la aplicación de EDTA al suelo, pero es reducida en la raíz (You y Li, 2009). Semejante a lo obtenido por Hajibolan (2005) al trabajar en un medio hidropónico en *Medicago* sin EDTA, el Cr se acumulo en raíz, seguido por tallo > hoja.

La translocación de Cromo de las raíces hacia los brotes es extremadamente limitado y su acumulación por las raíces es mayor que para los brotes, independientemente de las especies (Ciura *et al.*, 2005).

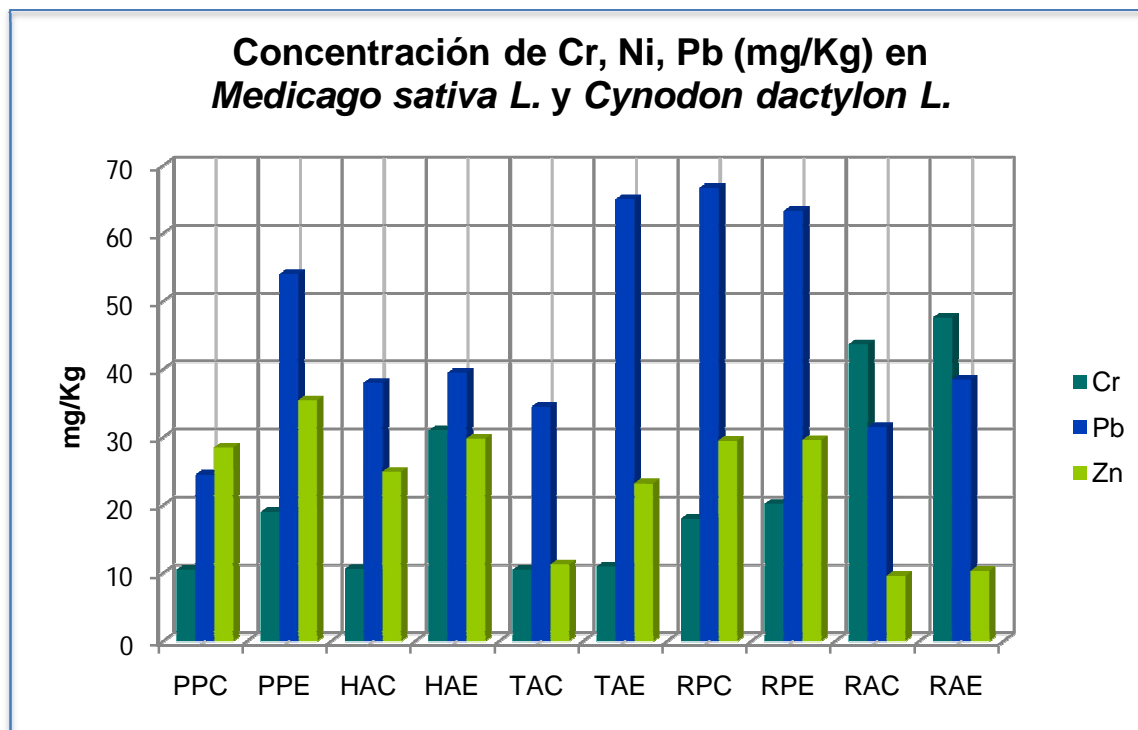


Fig. 7. Concentración de metales pesados en *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* cultivados en suelo de Cuemanco con y sin EDTA.

(HAC) Hoja Alfalfa sin EDTA, (TAC) Tallo Alfalfa sin EDTA, (RAC) Raíz Alfalfa sin EDTA  
 (HAE) Hoja Alfalfa con EDTA, (TAE) Tallo Alfalfa con EDTA, (RAE) Raíz Alfalfa con EDTA  
 (PPC) Parte aérea Pasto sin EDTA, (RPC) Raíz pasto sin EDTA  
 (PPE) Parte aérea Pasto con EDTA, (RPE) Raíz Pasto con EDTA.

En este estudio, el Pb no se acumuló solo en raíz, donde tuvo la mayor concentración (Figura 7), este metal se movilizó hasta parte aérea (Cuadro 3), a nivel crítico (Kabata-Pendias y Pendias, 1984), en suelo con EDTA donde se desarrolló *Cynodon dactylon*, el plomo presentó poca movilidad, por lo que se limitó solo a la raíz (Ciura *et al.*, 2005). De forma similar sucede en especies como *Cynara cardunculus L.*, en un medio hidropónico, presentó concentración mayor de Pb en raíz y parte aérea, siendo la raíz con EDTA quien más acumuló el metal (Hernández-Allica *et al.*, 2007). Resultados diferentes se presentan en los trabajos de: Shuaibu *et al.*, (2012) donde *Eleusine indica L.* de la familia Poaceae, acumula más Pb en parte aérea que en raíz con EDTA; Petrová *et al.*, (2012) encuentran que el Pb se distribuye en *Canabis sativa L.*, de la siguiente manera:

raíz > tallo > hoja, acumulando mas plomo en raíz sin la adición de EDTA, aunque las concentraciones en tallo y hoja son mayores con EDTA en comparación con estos órganos en suelo sin EDTA. En suelo sin EDTA *Cynodon* acumulo mas plomo en raíz (Sekabira *et al.*, 2011), comportamiento similar ocurre en otras especies de la familia *Poaceae* como son *Zea mays*, *Sorghum bicolor* y *Hordeum vulgare* (Abou-Shanab *et al.*, 2007; Şekara *et al.*, 2005).

Raíz, tallo y hoja de *Medicago sativa* presentan una concentración crítica para Plomo (Kabata-Pendias y Pendias 1984). Este es considerado como un metal casi inmóvil (Şekara *et al.*, 2005; Ciura *et al.*, 2005; Mireles *et al.*, 2004); los resultados de esta investigación demuestran que la adición de EDTA permitió que el Pb se translocara hasta la parte aérea de la planta, es el tallo el tejido que mas concentración presenta. En otras plantas como *Brassica juncea* se observa una acumulación mayor de Pb en parte aérea con EDTA en comparación con los no tratados (Kumar *et al.*, 2011); *Tagetes erecta* acumula mayor concentración de plomo con la adición de EDTA en hoja seguido por tallo y raíz (Sinhal *et al.*, 2010). En suelo enmendado con biosólidos y EDTA, *Helianthus annuus* acumula más Pb en las hojas (Liphadzi y Kirkham, 2006). *Brassica Juncea* es considerada como eficaz en la remediación de Plomo debido a su gran producción de biomasa, acumula un 95% de Pb en sus raíces (Şekara *et al.*, 2005; Ciura *et al.*, 2005).

*Cynodon dactylon*, en suelo con EDTA concentro mas Zinc en parte aérea (Cuadro 3), en comparación con el tratamiento sin EDTA a diferencia de *Medicago sativa*, la cultivada en suelo con EDTA concentró Zinc en mayor cantidad en las hojas seguido por tallo y raíz. Un comportamiento similar tiene *Tagetes erecta*, acumulando en parte aérea (hoja > tallo) una mayor concentración de Zn con la adición de EDTA y en raíz pero a menor concentración que parte aérea (Sinhal *et al.*, 2010).

En otras especies se presentan resultados diferentes; en *Cynara cardunculus L.* (en medio hidropónico) y *Canabis sativa L.* tuvieron mayor concentración de Zinc en raíz sin EDTA (Hernández-Allica *et al.*, 2007; Petrová *et al.*, 2012). El Zn tiene efectos positivos en el crecimiento de *Medicago sativa* incluso a concentraciones



moderadamente altas, este elemento junto con Ni y Cu son micronutrientes esenciales para la nutrición de las plantas. La fisiología y bioquímica de los efectos tóxicos de Zn en plantas son similares a los reportados para otros metales pesados, sin embargo, no se considera altamente fitotóxico (Aydinalp y Marinova, 2009). Las plantas acumulan fácilmente Zn en tallo y hoja. La resistencia de las plantas a altos niveles de zinc en los tejidos puede ser un factor que favorece la fitoextracción de Pb (Ciura *et al.*, 2005).

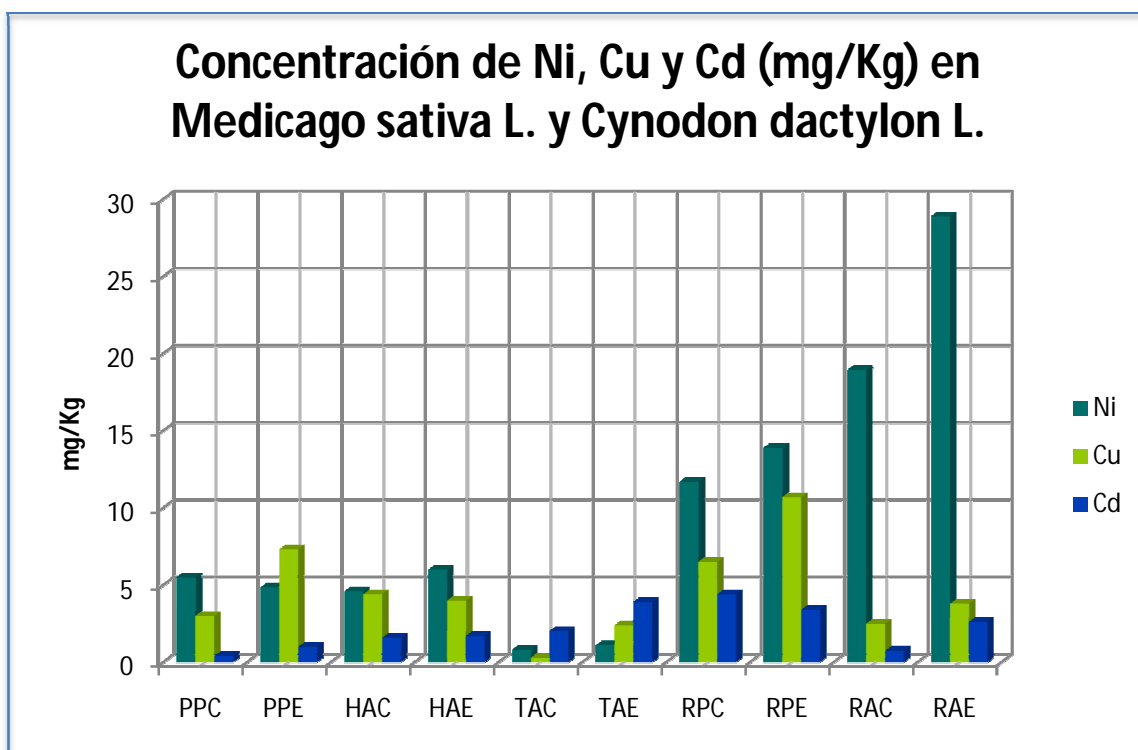


Fig. 8. Concentración de metales pesados en *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* cultivados en suelo de Cuernavaca con y sin EDTA.

(HAC) Hoja Alfalfa sin EDTA, (TAC) Tallo Alfalfa sin EDTA, (RAC) Raíz Alfalfa sin EDTA, (HAE) Hoja Alfalfa con EDTA, (TAE) Tallo Alfalfa con EDTA, (RAE) Raíz Alfalfa con EDTA, (PPC) Parte aérea Pasto sin EDTA, (RPC) Raíz pasto sin EDTA, (PPE) Parte aérea Pasto con EDTA, (RPE) Raíz Pasto con EDTA.

Al comparar el tratamiento PE, con PC (Cuadro 3), se observa que *Cynodon dactylon*, concentró Níquel de manera más eficaz en raíz a nivel crítico (Kabata-Pendias y Pendias, 1984). El Níquel, se movilizó, a la parte aérea, pero en concentraciones menores que la de raíz (Figura 8). Este, es transportado

fácilmente de las raíces hacia los brotes, donde se acumula en grandes cantidades (Ciura *et al.*, 2005). En *Medicago sativa* presenta una concentración crítica en raíz para ambos tratamientos y una concentración mayor en AC (Hajibolan 2005; Mireles *et al.*, 2004); al comparar los dos tratamientos (AC y AE) para tallo y hoja, se observa que el quelante permite una mayor acumulación del metal en estos órganos (Sung *et al.*, 2011). Diferente a lo encontrado para *Helianthus annuus* en un suelo enmendado con biosólidos donde la concentración de Ni es mayor en hoja pero con la adición de EDTA (Liphadzi y Kirkham, 2006). En el trabajo de (Chen y Cutright, 2001), *Helianthus annuus* acumuló una mayor concentración del metal en tallo, en el tratamiento de suelo con EDTA.

La concentración mayor de Cu en *Cynodon dactylon*, en el tratamiento PE, estuvo en raíz seguido por parte aérea (Figura 8). El cobre es un metal, que una vez que es absorbido, se acumula en las raíces, incluso cuando hayan sido dañadas por la toxicidad (Aydinalp y Marinova, 2009). Diferente a lo presentado en plantas de *Eleusine indica L.* de la familia Poaceae, que acumulo mayor concentración de Cu en parte aérea que en raíz en suelo con EDTA. (Shuaibu *et al.*, 2012), en cambio *Cynodon* acumula más cobre en raíz al crecer en suelos sin EDTA (Abou-Shanab *et al.*, 2007; Sekabira *et al.*, 2011).

El mayor contenido de Cu en *Medicago sativa*, fue en hoja seguido por raíz y tallo (Figura 8), debido a la adición de EDTA en el suelo. En los resultados de Mireles *et al.*, (2004) la raíz acumuló más el metal seguido por hoja > tallo en *Medicago sativa* en suelos sin EDTA.

Diferente a lo presentado en otras especies como *Cannabis sativa L.* que sigue la misma distribución que *Medicago sativa*, pero en suelo sin EDTA, donde la concentración en tallo es mayor (Petrová *et al.*, 2012). En *Tagetes erecta* acumulo mayor concentración de Cu con la adición de EDTA en comparación con el control sin EDTA, la mayor concentración estuvo en hoja seguido por tallo y raíz (Sinhal *et al.*, 2010).

En el tratamiento PE (Cuadro 3), *Cynodon dactylon*, tuvo concentraciones de Cd más elevadas en raíz que en parte aérea; Cd es un elemento bastante inmóvil, se ha clasificado como de toxicidad intermedia, normalmente los iones Cd se mantienen principalmente en las raíces, y sólo pequeñas cantidades se transportan a los brotes (Jadia y Fulekar, 2008; Sanità y Gabrielli, 1999; Singh *et al.*, 2009). Las plantas pueden acumular grandes cantidades de este elemento, aunque su concentración en el suelo sea baja (Ciura *et al.*, 2005). En otras plantas como *Cynara cardunculus* L. (en medio hidropónico), *Cannabis sativa* L. y *Helianthus annuus* se presenta la misma distribución de Cu que en *Cynodon*, pero las concentraciones más altas son sin la adición de EDTA (Chen y Cutright, 2001; Hernández-Allica *et al.*, 2007., Petrová *et al.*, 2012). *Cynodon* acumula más cadmio en raíz en suelos sin EDTA (Sekabira *et al.*, 2011), esto también se presenta en *Hordeum vulgare* perteneciente a la familia (*Poaceae*) (Şekara *et al.*, 2005).

En el tratamiento AE, *Medicago sativa* acumulo mayor cantidad de Cd en tallo seguido por raíz y hoja (Figura 8). La cantidad de cadmio acumulado por las plantas aumenta con el incremento de la concentración de este metal en el medio de cultivo (Singh *et al.*, 2009). De forma similar se da la distribución de Cu, pero en suelo sin la adición de EDTA (Şekara *et al.*, 2005) y en los trabajos de (Hajibolan 2005; Singh *et al.*, 2009) el cadmio se acumula principalmente en las raíces de la planta.

En otras especies como *Helianthus annuus*, acumula mas Cd en las hojas en un suelo enmendado con biosólidos y con EDTA (Liphadzi y Kirkham 2006). *Tagetes erecta* acumula una mayor concentración de Cd con la adición de EDTA en comparación con el control sin EDTA, la mayor concentración estuvo en hoja seguido por tallo y raíz (Sinha *et al.*, 2010).

## 10.5 Factor de Translocación

Cuadro 4. Translocación de metal en *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* en suelo de Cuemanco sin EDTA y con EDTA.

	<i>Medicago sativa L.</i>		<i>Cynodon dactylon L.</i>	
<b>Metal</b>	Factor de Translocación <sup>(a)</sup>	Factor de Translocación <sup>(b)</sup>	Factor de Translocación <sup>(a)</sup>	Factor de Translocación <sup>(b)</sup>
<b>Cromo</b>	0.24	0.23	0.58	0.94
<b>Níquel</b>	0.04	0.06	0.54	0.36
<b>Plomo</b>	1.15 <sup>k</sup>	1.70 <sup>k</sup>	0.37	0.8
<b>Zinc</b>	1.18 <sup>k</sup>	2.25 <sup>k</sup>	0.97	1.19 <sup>k</sup>
<b>Cobre</b>	0.12	0.63	0.48	0.68
<b>Cadmio</b>	2.79 <sup>k</sup>	1.51 <sup>k</sup>	0.08	0.31

<sup>k</sup> hiperacumuladora, suelo de Cuemanco sin EDTA (a), suelo de Cuemanco con EDTA (b).

Para saber si existe un transporte de metal de la raíz al tallo se utilizó el Factor de Translocación (FT) si los valores son menores a 1 se considera que la planta es tolerante, pero si es mayor a 1 es hiperacumuladora (Shu, *et al.*, 2002; Sung *et al.*, 2011). Alfalfa es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio y tolerante a Cromo, Níquel y Cobre en suelo sin EDTA; en suelo con EDTA es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y tolerante a Cromo, Níquel y Cobre. Pasto bermuda es una planta hiperacumuladora de Zinc y tolerante a Cromo, Níquel, Plomo, Cobre, Cadmio en suelo con EDTA; en suelo solo, Pasto bermuda es tolerante a Cr, Ni, Pb, Zn, Cu y Cd.

## 10.6 Análisis estadístico

Se utilizó una ANOVA, para determinar diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de metales pesados entre los distintos tratamientos y entre los órganos de las especies vegetales. Para el análisis de resultados se empleó el software estadístico STATGRAPHICS y el método fue: diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Cuadro 5. Diferencias estadísticamente significativas entre raíz, tallo y hoja de *Medicago sativa* L. y *Cynodon dactylon* L.

Contraste	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
HAE-HAC	*			*		
TAE-TAC			*	*	*	*
RAE-RAC	*		*		*	*
PPE-PPC	*		*	*	*	*
RPE-RPC	*	*			*	*
RPE-PPE		*	*	*	*	*
RAE-TAE	*	*	*	*	*	*
RAE-HAE	*	*		*		*
TAE-HAE	*	*	*	*	*	*
RAC-TAC	*	*			*	*
RAC-HAC	*	*	*	*	*	*
TAC-HAC		*		*	*	*
RPC-PPC	*	*	*		*	*

\* diferencia estadísticamente significativa,  $p < 0.05$

(HAC) Hoja Alfalfa sin EDTA, (TAC) Tallo Alfalfa sin EDTA, (RAC) Raíz Alfalfa sin EDTA  
 (HAE) Hoja Alfalfa con EDTA, (TAE) Tallo Alfalfa con EDTA, (RAE) Raíz Alfalfa con EDTA  
 (PPC) Parte aérea Pasto sin EDTA, (RPC) Raíz pasto sin EDTA  
 (PPE) Parte aérea Pasto con EDTA, (RPE) Raíz Pasto con EDTA.

Cuadro 6. Diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos

Contraste	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
SC-SE	*	*	*			
PC-PE	*		*		*	*
AC-AE		*	*		*	
SC-AC		*	*	*	*	*
SC-PC		*		*	*	*
PC-AC	*	*		*	*	
PE-AE	*		*	*	*	*

\* diferencia estadísticamente significativa,  $p < 0.05$

(SC) Suelo sin EDTA, (SE) Suelo con EDTA, (PC) Pasto sin EDTA, (PE) Pasto con EDTA, (AC) Alfalfa sin EDTA, (AE) Alfalfa con EDTA.

## 11. CONCLUSIONES

La adición del agente quelante (EDTA), mejoro la capacidad de Cromo, Plomo, Zinc, Cobre y Cadmio para movilizarse en el suelo, y estar más disponibles para las plantas.

El crecimiento de *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* fue similar en suelo con y sin EDTA; *Medicago* se vio afectada en los tratamientos quedando por debajo de la altura descrita por esta especie; *Cynodon* en cambio no se vio afectado.

*Medicago sativa L.* concentro más Cromo en raíz, Plomo en tallo, Zinc y Cobre en hoja y Cadmio en tallo, en el suelo donde se añadió el agente quelante (EDTA) y Níquel en raíz en suelo sin EDTA.

*Cynodon dactylon L.* concentro más Cr, Ni, Zn, Cu en raíz en suelo con la adición de EDTA, y, Plomo y Cadmio en raíz, en suelo sin EDTA.

*Medicago sativa L.* es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y, tolerante para Cromo, Níquel, Cobre, en suelo con y sin EDTA.

*Cynodon dactylon L.* es hiperacumuladora de Zinc en suelo sin EDTA, y tolerante para Cromo, Níquel, Plomo, Cobre y Cadmio en ambos tratamientos.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentasti, E., Sarzanini, C., Barberis, R. 2002. Distribution and mobility of metals in contaminated sites. Chemometric investigation of pollutant profiles. *Environmental Pollution*, 119 (2), 177-193.

Abou-Shanab, R., Ghanem, N., Ghanem, K., Al-Kolaibe, A. 2007. Phytoremediation Potential of Crop and Wild Plants for Multi-metal Contaminated Soils. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3(5), 370-376.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2004. Reseña Toxicológica Consultado 4 de septiembre de 2011. del Cobre. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts132.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts132.html).

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2005. Reseña Toxicológica del Níquel. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts15.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts15.pdf).

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2005. Reseña Toxicológica del Zinc. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts60.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts60.html).

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2007. Reseña Toxicológica del Plomo. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs13.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs13.html).

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2008. Reseña Toxicológica del Cadmio. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts5.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts5.pdf)

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2008. Reseña Toxicológica del Cromo. Consultado 4 de septiembre de 2011. Disponible: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts7.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts7.pdf).

Akinci, E., Akinci, S., Yilmaz, K. 2010. Response of tomato (*Solanum Lycopersicum L.*) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content. *African Journal of Agricultural Research* 5 (6), 416-423.

Ayanz, A. 2007. Leguminosas de interés para la implantación de praderas. Ecología y pautas básicas de utilización. Universidad Politécnica de Madrid. Departamento de Silvopascicultura. Madrid, España.



Aydinalp. C., Marinova, S. 2009. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on Alfalfa plant (*Medicago sativa*). Bulgarian Journal of Agricultural Science 15 (4), 347-350.

Bidar, G., Garçon, G., Pruvot, C., Dewaele, D., Cazier, F., Douay, F., Shirali, P. 2007. Behavior of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration and phytotoxicity. Environmental Pollution 147, 546-553.

Bonfranceschi, A., Flocco, C., Donati, E. 2009. Study of the heavy metal phytoextraction capacity of two forage species growing in an hydroponic environment. Journal of Hazardous Materials 165, 366–371.

Bowen, H. J. M., 1979. Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press. London.

Bytyqi, A., Sherifi, E. 2010. Cadmium and lead accumulation in Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) and their influence on the number of stomata. Materials and technology 44 (5), 277–282.

Carpena, R., Bernal, M. 2007. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. Ecosistemas 16 (2), 1-3.

Casanova, M., Vera, W., Luzio, W., Salazar, O. 2004. Edafología. Guía de clases prácticas. Facultad de ciencias agronómicas. Universidad de Chile. Chile.

Chen, H., Cutright, T. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus* . chemosphere 45, 21-28.

Chen, Y., Li, X., Shen, Z. 2004. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. Chemosphere 57, 187–196.

Cicerone, D., Sánchez, P., Paula, R. 2006. Contaminación y medio ambiente. Eudeba. Buenos Aires, Argentina.

Ciura, J., Poniedziałek, M., Sękara, A., Jędrszczyk. E. 2005. The possibility of using crops as metal phytoextractants. Polish Journal of Environmental Studies 14 (1),17-22.

D'Attellis, R. 2005. Alfalfa (*Medicago sativa L.*) Producción de semilla, Tinogasta, Catamarca. Dirección Provincial de Programación del Desarrollo Ministerio de

Producción y Desarrollo Gobierno de la Provincia de Catamarca. Buenos Aires, Argentina.

Del Río, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., De Haro, A. 2002. Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology* 98, 125-137.

Delgadillo, A., González, C., Prieto, F., Villagómez, J., Acevedo, A. 2011. Phytoremediation: An alternative to eliminate pollution. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14, 597- 612.

Garbisu, C., Alkorta, I. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology* 77 (3), 229–236.

García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. México. D. F. 252.

Guevara, A., de la Torre, E., Villegas, A., Criollo, E. 2009. Uso de la rizofiltración para el tratamiento de efluentes líquidos de cianuración que contienen cromo, cobre y cadmio. *Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*; S1 (2), 871-878.

Hajiboland, R. 2005. An evaluation of the efficiency of cultural plants to remove heavy metals from growing medium. *Plant Soil Environ* 51 (4), 156–164.

Halvorson, W., Guertin, P. 2003. *Cynodon dactylon* (L.) Pers. USGS Weeds in the West project: Status of Introduced Plants in Southern Arizona Parks. University of Arizona. Tucson, Arizona.

Herbotecnia. 2005. Pata de Perdíz, Gramón. Herbotecnia. Consultado 2 de enero de 2012. Disponible: <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-cynodon.html>.

Hernandez-Allica, J., Garbisu, C., Barrutia, O. Becerril, J. 2007. EDTA-induced heavy metal accumulation and phytotoxicity in cardoon plants. *Environmental and Experimental Botany* 60, 26–32.

Huang, J., Chen, J., Berti, W., Cunningham, S. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31, 800-805.

Instituto Nacional de Ecología. 2009. Metales pesados. Consultado 12 de septiembre de 2011. Disponible: <http://www.ine.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales>.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2000. producción y utilización de la alfalfa en la zona norte de México. Sagar. Coahuila, México.

Jadia, C., Fulekar, M. 2008. Phytotoxicity and Remediation of Heavy Metals by Alfalfa (*Medicago sativa*) in Soil-vermicompost Media. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 2(3), 141-151.

Jadia, C., Fulekar, M. 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African Journal of Biotechnology* 8 (6), 921-928.

Julca, A., Meneses, L., Blas, R., Bello, S., 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA (Chile)* 24 (1), 49-61.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 1989. Trace Elements in Soils and Plants. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida.

Kumar, J., Srivastava, A., Singh, V. 2011. EDTA enhanced phytoextraction of Pb by Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Plant Sciences Feed* 1 (9), 160-166.

Lasat, M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. Published in *J. Environ. Qual.* 31, 109–120.

Liphadzi, M., Kirkham, M. 2006. Availability and plant uptake of heavy metals in EDTA-assisted phytoremediation of soil and composted biosolids. *South African Journal of Botany* 72, 391–397.

López, S., Gallegos, E., Pérez, L. Gutiérrez, M. 2005. Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobioticas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 21 (2), 91-100.

Lugo, J., Chávez, M., Evangelista, B., Vaca, R., Del Águila, P., Hernández, D. 2006. Metales pesados totales y disponibles en suelos adicionados con lodos residuales después de 12 meses de aplicación. Facultad de Ciencias UAEM. Toluca, México.

Luo, C., Shen, Z., Li, X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59, 1–11.

Manousaki, E., Kadukova, J., Papadantonakis, N., Kalogerakis, N. 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils. *Environmental Research*, 106,326-332.

Márquez. J., Quiroga, H. 2000. Produccion y utilizacion de la alfalfa en la zona norte de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. México.

Mireles, A., Solis, C., Andrade, E., Lagunas, M., Piña, C., Flocchini, R. 2004. Heavy metal accumulation in plants and soil irrigated with wastewater from Mexico City. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 219,220, 187–190.

Nayek, S., Gupta, S., Saha, R. 2010. Metal accumulation and its effect in relation to biochemical response of vegetables irrigated with metal contaminated water and wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 178, 588-595.

NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. México.

Nowosielska, A., Kucharski, R., Malkowski, E., Pogrzeba, M., Kuperberg, J., Krynsk, K. 2003. Phytoextraction crop disposal—an unsolved problem. *Environmental Pollution* 128, 373–379.

Núñez, R., Meas, V., Ortega, B., Olgún, E. 2004. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Ciencia* 55 (3), 69-82.

Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M., Villar, S. 2007. Metales pesados. La contaminación de los suelos. Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Universidad de Alcalá. España, 12-14.

Petrová, S., Benešová, D., Soudek, P., Vaněk, T. 2012. Enhancement of metal(loid)s phytoextraction by *Cannabis sativa* L. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 10 (1), 631-641.

Picasso, J. 2001. Nitrógeno en el césped –Importancia del nitrógeno. Semillas de césped y semillas forrajeras. Argentina.

Plant, J., Raiswell, R. 1983. Principles of environmental chemistry. En: Thornton I (ed). *Applied Environmental Geochemistry*. 1-39. Academic Press. Londres.

Poulik, Z. 1999. Influence of nickel contaminated soils on lettuce and tomatoes. *Scientia Horticulturae* 81, 243-250.

Prieto, J., González, C., Román, A., Prieto, F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10 (1), 29-44.

Radojević, M., Bashkin, V. 1999. *Practical Environmental Analysis*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Great Britain.

Rebuffo, M., Risso D., Restaino E. 2000. Tecnología en alfalfa. *Boletín de divulgación* 69. INIA. Uruguay.

Sanità, L., Gabrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41, 105–130.

Sekabira, K., Oryem, H., Mutumba, G., Kakudidi, E., Basamba, T. 2011. Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* (L) and *Cynodon dactylon* (L) growing in Urban stream sediments. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 3(8), 133-142.

Sękara, A., Poniedziałek, M., Ciura, J., Jędrszczyk. E. 2005. Zinc and Copper accumulation and distribution in the tissues of nine crops: Implications for Phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies* 14 (6), 829-835.

Shu, W., Ye, Z., Lan, C., Zhang, Z., Wong, M. 2002. Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environ. Pollut. J.* 120 (2), 445–453.

Shuaibu, G., Akuewanbhor, O., Humphrey, M., Jeffry, B. 2012. Ethylenediaminetetraacetate (EDTA)-Assisted phytoremediation of heavy metal contaminated soil by *Eleusine indica* L. Gearth. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 4 (5), 103-109.

Sierra, V. 2006. Fitorremediación de un suelo contaminado con plomo por actividad industrial. Tesis (Ingeniero Agrícola y Ambiental). Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” División de Ingeniería.

Singh, A., Eapen, S., Fulekar, M. 2009. Potential of *Medicago sativa* for uptake of cadmium from contaminated Environment. *Romanian Biotechnological Letters* 14 (1), 4164-4169.

Sinhal, V., Srivastava, A., Singh, V. 2010. EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta*). *Journal of Environmental Biology*, 255-259.

Spain, A. 2003. Implications of microbial heavy metals tolerance in the environment. *Reviews In Undergraduate Research*, 2, 1-6.

Sung, M., Lee, C., Lee, S. 2011. Combined mild soil washing and compostassisted phytoremediation in treatment of silt loams contaminated with copper, nickel, and chromium. *Journal of Hazardous Materials* 190, 744-754.

Turgut, C., Pepe, M., Cutright, T. 2005. The effect of EDTA on *Helianthus annuus* uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils. *Chemosphere* 58, 1087–1095.

Vara, M., de Oliveira, H. 2003. Metal hyperaccumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3), 285– 321.

Villaseñor, J., L. y Espinosa, F. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.

Villegas, O., Acosta, C., Alia, I., Lopez, V., Andrade, M. 2007. influencia de la presión osmótica de la solución nutritiva en la absorción de macronutrientes. *Investigación Agropecuaria* 4, 25-30.

Wang, C., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., Zhang, W., Li, W., Lin, P. 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere* 75, 1468-1476.

Wei, S., Zhou, Q., Koval, P., 2006. Flowering stage characteristics of cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their significance to phytoremediation. *Science of the Total Environment* 369, 441–446.

Wong, M. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50 (6), 775–780.

You, W., Li, T. 2009. Chelate assisted chromium uptake by Indian mustard in tannery sludge contaminated soil. School of Light Chemistry and Environmental Engineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan, Shandong, P.R. China.

Zapata Cruz, A, Galván V., M. A. 2004. Manual básico de absorción atómica para el manejo del equipo SPECTRA 2000 marca Varian. Facultad de estudios superiores Zaragoza. UNAM. México.

Zhuang, P., Ye, Z., Lan, C., Xie, Z., Shu, W. 2005. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. *Plant and Soil* 276, 153-162.

## Anexo

### Multiple Range Tests for Altura by Tipo de suelo

```
-----
Method: 95.0 percent LSD
Tipo de suelo  Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Alfalfa cuemanc23      16.7174      X
Alfalfa EDTA cu23      17.0435      X
-----
Contrast                                     Difference      +/-  Limits
-----
Alfalfa EDTA cuema - Alfalfa cuemanco      0.326087      5.10282
-----
* denotes a statistically significant difference.
```

#### The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. There are no statistically significant differences between any pair of means at the 95.0% confidence level. At the top of the page, one homogenous group is identified by a column of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Altura by Tipo de suelo

```
-----
Method: 95.0 percent LSD
Tipo de suelo  Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Pasto EDTA cuem21      15.4714      X
Pasto cuemanco 21      15.7905      X
-----
Contrast                                     Difference      +/-  Limits
-----
Pasto EDTA cuemanc - Pasto cuemanco      -0.319048      7.75224
-----
* denotes a statistically significant difference.
```

#### The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. There are no statistically significant differences between any pair of means at the 95.0% confidence level. At the top of the page, one homogenous group is identified by a column of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference



(LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Cromo by Suelo

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Suelo      Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Alfs/E      3          13.2      X
snEDTA      3          14.0      X
Alfc/E      3          16.4667   X
Pasts/E     3          16.6667   X
Pastc/E     3          35.2      X
CnEDTA      3          35.7      X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
Alfc/E - Alfs/E                3.26667      6.19407
Alfc/E - CnEDTA                *-19.2333    6.19407
Alfc/E - Pastc/E                *-18.7333    6.19407
Alfc/E - Pasts/E                -0.2         6.19407
Alfc/E - snEDTA                2.46667     6.19407
Alfs/E - CnEDTA                *-22.5       6.19407
Alfs/E - Pastc/E                *-22.0       6.19407
Alfs/E - Pasts/E                -3.46667    6.19407
Alfs/E - snEDTA                -0.8         6.19407
CnEDTA - Pastc/E                0.5          6.19407
CnEDTA - Pasts/E                *19.0333     6.19407
CnEDTA - snEDTA                *21.7        6.19407
Pastc/E - Pasts/E                *18.5333     6.19407
Pastc/E - snEDTA                *21.2        6.19407
Pasts/E - snEDTA                2.66667     6.19407
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 8 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## Multiple Range Tests for Niquel by Suelo

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Suelo      Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Alfc/E      3          16.7      X
Pastc/E     3          18.3333   X
Pasts/E     3          19.0333   X
CnEDTA      3          23.2667   X
Alfs/E      3          23.3      X
snEDTA      3          29.7      X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
Alfc/E - Alfs/E          *-6.6          4.17401
Alfc/E - CnEDTA          *-6.56667      4.17401
Alfc/E - Pastc/E         -1.63333      4.17401
Alfc/E - Pasts/E         -2.33333      4.17401
Alfc/E - snEDTA          *-13.0         4.17401
Alfs/E - CnEDTA          0.0333333     4.17401
Alfs/E - Pastc/E         *4.96667      4.17401
Alfs/E - Pasts/E         *4.26667      4.17401
Alfs/E - snEDTA          *-6.4          4.17401
CnEDTA - Pastc/E         *4.93333      4.17401
CnEDTA - Pasts/E         *4.23333      4.17401
CnEDTA - snEDTA          *-6.43333     4.17401
Pastc/E - Pasts/E        -0.7          4.17401
Pastc/E - snEDTA         *-11.3667     4.17401
Pasts/E - snEDTA         *-10.6667     4.17401
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 11 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 3 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## Multiple Range Tests for Plomo by Suelo

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Suelo      Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Alfs/E      3          46.0      X
Pasts/E     3          56.5      XX
snEDTA      3          67.0      X
Alfc/E      3          68.5      X
CnEDTA      3          85.0      X
Pastc/E     3          124.5     X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----

```

Alfc/E - Alfs/E	*22.5	15.6697
Alfc/E - CnEDTA	*-16.5	15.6697
Alfc/E - Pastc/E	*-56.0	15.6697
Alfc/E - Pasts/E	12.0	15.6697
Alfc/E - snEDTA	1.5	15.6697
Alfs/E - CnEDTA	*-39.0	15.6697
Alfs/E - Pastc/E	*-78.5	15.6697
Alfs/E - Pasts/E	-10.5	15.6697
Alfs/E - snEDTA	*-21.0	15.6697
CnEDTA - Pastc/E	*-39.5	15.6697
CnEDTA - Pasts/E	*28.5	15.6697
CnEDTA - snEDTA	*18.0	15.6697
Pastc/E - Pasts/E	*68.0	15.6697
Pastc/E - snEDTA	*57.5	15.6697
Pasts/E - snEDTA	-10.5	15.6697

-----  
\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

-----  
This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 11 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Zinc by Suelo

-----

Method: 95.0 percent LSD

Suelo	Count	Mean	Homogeneous Groups
Alfc/E	3	9.9	X
Alfs/E	3	11.6	X
snEDTA	3	41.6	X
CnEDTA	3	43.4	XX
Pastc/E	3	50.7633	XX
Pasts/E	3	54.6	X

-----

Contrast	Difference	+/- Limits
Alfc/E - Alfs/E	-1.7	7.56513
Alfc/E - CnEDTA	*-33.5	7.56513
Alfc/E - Pastc/E	*-40.8633	7.56513
Alfc/E - Pasts/E	*-44.7	7.56513
Alfc/E - snEDTA	*-31.7	7.56513
Alfs/E - CnEDTA	*-31.8	7.56513
Alfs/E - Pastc/E	*-39.1633	7.56513
Alfs/E - Pasts/E	*-43.0	7.56513
Alfs/E - snEDTA	*-30.0	7.56513
CnEDTA - Pastc/E	-7.36333	7.56513
CnEDTA - Pasts/E	*-11.2	7.56513
CnEDTA - snEDTA	1.8	7.56513
Pastc/E - Pasts/E	-3.83667	7.56513
Pastc/E - snEDTA	*9.16333	7.56513
Pasts/E - snEDTA	*13.0	7.56513

-----

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 11 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Multiple Range Tests for Cobre by Suelo

-----

Method: 95.0 percent LSD

Suelo	Count	Mean	Homogeneous Groups
Alfc/E	3	7.6	X
Pasts/E	3	8.86667	X
Alfs/E	3	9.8	X
snEDTA	3	10.9333	X
CnEDTA	3	11.4	X
Pastc/E	3	11.6	X

-----

Contrast	Difference	+/- Limits
Alfc/E - Alfs/E	*-2.2	0.87956
Alfc/E - CnEDTA	*-3.8	0.87956
Alfc/E - Pastc/E	*-4.0	0.87956
Alfc/E - Pasts/E	*-1.26667	0.87956
Alfc/E - snEDTA	*-3.33333	0.87956
Alfs/E - CnEDTA	*-1.6	0.87956
Alfs/E - Pastc/E	*-1.8	0.87956
Alfs/E - Pasts/E	*0.933333	0.87956
Alfs/E - snEDTA	*-1.13333	0.87956
CnEDTA - Pastc/E	-0.2	0.87956
CnEDTA - Pasts/E	*2.53333	0.87956
CnEDTA - snEDTA	0.466667	0.87956
Pastc/E - Pasts/E	*2.73333	0.87956
Pastc/E - snEDTA	0.666667	0.87956
Pasts/E - snEDTA	*-2.06667	0.87956

-----

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 12 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences.

The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Cadmio by Suelo

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Suelo      Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
Alfc/E      3          0.0          X
Pasts/E     3          0.0          X
Alfs/E      3          0.1          X
snEDTA      3          0.4          X
CnEDTA      3          0.5          X
Pastc/E     3          0.633333    X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
Alfc/E - Alfs/E          -0.1            0.11094
Alfc/E - CnEDTA          *-0.5            0.11094
Alfc/E - Pastc/E        *-0.633333      0.11094
Alfc/E - Pasts/E         0.0            0.11094
Alfc/E - snEDTA          *-0.4            0.11094
Alfs/E - CnEDTA          *-0.4            0.11094
Alfs/E - Pastc/E        *-0.533333      0.11094
Alfs/E - Pasts/E         0.1            0.11094
Alfs/E - snEDTA          *-0.3            0.11094
CnEDTA - Pastc/E        *-0.133333      0.11094
CnEDTA - Pasts/E         *0.5            0.11094
CnEDTA - snEDTA          0.1            0.11094
Pastc/E - Pasts/E        *0.633333      0.11094
Pastc/E - snEDTA         *0.233333      0.11094
Pasts/E - snEDTA         *-0.4            0.11094
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

```

-----

```

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 11 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 3 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## Multiple Range Tests for Cromo by Planta

-----  
 Method: 95.0 percent LSD

Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Pa s/EDTA	3	10.5	X
Tallo Alf s/EDT3		10.5	X
Hoja Alf s/EDTA3		10.55	X
Tallo Alf c/EDT3		11.0	X
Raíz Pas s/EDTA3		18.0	X
Pa c/EDTA	3	19.0	XX
Raíz Pas c/EDTA3		20.17	X
Hoja Alf c/EDTA3		31.0	X
Raíz Alf s/EDTA3		43.7	X
Raíz Alf c/EDTA3		47.6	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	*20.45	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	*12.0	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	*20.5	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-16.6	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-12.7	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*10.83	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*13.0	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*20.0	1.23554
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*20.5	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	*-8.45	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	0.05	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-37.05	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-33.15	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-9.62	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-7.45	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	-0.45	1.23554
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	0.05	1.23554
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	*8.5	1.23554
Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-28.6	1.23554
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-24.7	1.23554
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	-1.17	1.23554
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	1.0	1.23554
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*8.0	1.23554
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*8.5	1.23554
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-37.1	1.23554
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-33.2	1.23554
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-9.67	1.23554
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-7.5	1.23554
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	-0.5	1.23554
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	0.0	1.23554
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*3.9	1.23554
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*27.43	1.23554
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*29.6	1.23554
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*36.6	1.23554
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*37.1	1.23554
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*23.53	1.23554
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*25.7	1.23554
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*32.7	1.23554
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*33.2	1.23554
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*2.17	1.23554
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*9.17	1.23554
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*9.67	1.23554
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*7.0	1.23554
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*7.5	1.23554
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	0.5	1.23554

-----  
 \* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 37 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 6 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Multiple Range Tests for Niquel by Planta

-----  
 Method: 95.0 percent LSD

Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Tallo Alf s/EDT3		0.75	X
Tallo Alf c/EDT3		1.1	X
Hoja Alf s/EDTA3		4.6	X
Pa c/EDTA	3	4.85	X
Pa s/EDTA	3	5.5	X
Hoja Alf c/EDTA3		6.0	X
Raíz Pas s/EDTA3		10.17	X
Raíz Pas c/EDTA3		13.9233	X
Raíz Alf c/EDTA3		16.95	X
Raíz Alf s/EDTA3		18.95	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	1.4	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	1.15	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	0.5	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-10.95	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-12.95	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-7.92333	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-4.17	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*4.9	2.98571
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*5.25	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	-0.25	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	-0.9	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-12.35	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-14.35	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-9.32333	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-5.57	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*3.5	2.98571
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*3.85	2.98571
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	-0.65	2.98571
Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-12.1	2.98571
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-14.1	2.98571
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-9.07333	2.98571
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-5.32	2.98571
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*3.75	2.98571
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*4.1	2.98571
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-11.45	2.98571
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-13.45	2.98571
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-8.42333	2.98571
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-4.67	2.98571
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*4.4	2.98571
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*4.75	2.98571
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	-2.0	2.98571

Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*3.02667	2.98571
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*6.78	2.98571
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*15.85	2.98571
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*16.2	2.98571
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*5.02667	2.98571
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*8.78	2.98571
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*17.85	2.98571
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*18.2	2.98571
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*3.75333	2.98571
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*12.8233	2.98571
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*13.1733	2.98571
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*9.07	2.98571
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*9.42	2.98571
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	0.35	2.98571

-----  
\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

-----  
This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 37 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 5 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Plomo by Planta

-----

Method: 95.0 percent LSD			
Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Pa s/EDTA	3	24.5	X
Raíz Alf s/EDTA3		31.5	X
Tallo Alf s/EDT3		34.5	XX
Hoja Alf s/EDTA3		38.0	X
Raíz Alf c/EDTA3		38.5	X
Hoja Alf c/EDTA3		39.5	X
Pa c/EDTA	3	54.0	X
Raíz Pas c/EDTA3		63.34	X
Tallo Alf c/EDT3		65.0	X
Raíz Pas s/EDTA3		66.68	X

-----

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	1.5	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	*-14.5	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	*15.0	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	1.0	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*8.0	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-23.84	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-27.18	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-25.5	5.49921
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	5.0	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	*-16.0	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	*13.5	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	-0.5	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*6.5	5.49921



Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-25.34	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-28.68	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-27.0	5.49921
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	3.5	5.49921
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	*29.5	5.49921
Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*15.5	5.49921
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*22.5	5.49921
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-9.34	5.49921
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-12.68	5.49921
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-11.0	5.49921
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*19.5	5.49921
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-14.0	5.49921
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-7.0	5.49921
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-38.84	5.49921
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-42.18	5.49921
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-40.5	5.49921
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*-10.0	5.49921
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*7.0	5.49921
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-24.84	5.49921
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-28.18	5.49921
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-26.5	5.49921
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	4.0	5.49921
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-31.84	5.49921
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-35.18	5.49921
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-33.5	5.49921
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	-3.0	5.49921
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	-3.34	5.49921
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	-1.66	5.49921
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*28.84	5.49921
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	1.68	5.49921
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*32.18	5.49921
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*30.5	5.49921

-----  
 \* denotes a statistically significant difference.

#### The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 35 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 5 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## Multiple Range Tests for Zinc by Planta

Method: 95.0 percent LSD

Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Raíz Alf s/EDTA3		9.61667	X
Raíz Alf c/EDTA3		10.32	X
Tallo Alf s/EDT3		11.3067	X
Tallo Alf c/EDT3		23.23	X
Hoja Alf s/EDTA3		24.92	X
Pa s/EDTA 3		28.4967	X
Raíz Pas s/EDTA3		29.45	X
Raíz Pas c/EDTA3		29.62	X
Hoja Alf c/EDTA3		29.8333	X
Pa c/EDTA 3		35.37	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	*4.91333	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	*-5.53667	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	1.33667	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*19.5133	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*20.2167	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	0.213333	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	0.383333	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*6.60333	3.52864
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*18.5267	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	*-10.45	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	*-3.57667	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*14.6	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*15.3033	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-4.7	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-4.53	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	1.69	3.52864
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*13.6133	3.52864
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	*6.87333	3.52864
Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*25.05	3.52864
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*25.7533	3.52864
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*5.75	3.52864
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*5.92	3.52864
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*12.14	3.52864
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*24.0633	3.52864
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*18.1767	3.52864
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*18.88	3.52864
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	-1.12333	3.52864
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	-0.953333	3.52864
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*5.26667	3.52864
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*17.19	3.52864
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	0.703333	3.52864
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-19.3	3.52864
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-19.13	3.52864
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-12.91	3.52864
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	-0.986667	3.52864
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-20.0033	3.52864
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-19.8333	3.52864
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-13.6133	3.52864
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	-1.69	3.52864
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	0.17	3.52864
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*6.39	3.52864
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*18.3133	3.52864
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*6.22	3.52864
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*18.1433	3.52864
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*11.9233	3.52864

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 35 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Multiple Range Tests for Cobre by Planta

-----  
 Method: 95.0 percent LSD

Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Tallo Alf s/EDT3		0.3	X
Tallo Alf c/EDT3		2.4	X
Raíz Alf s/EDTA3		2.5	X
Pa s/EDTA	3	2.95	XX
Raíz Alf c/EDTA3		3.8	XX
Hoja Alf c/EDTA3		4.0	XX
Hoja Alf s/EDTA3		4.35	X
Raíz Pas s/EDTA3		6.46	X
Pa c/EDTA	3	7.25	X
Raíz Pas c/EDTA3		10.66	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	-0.35	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	*-3.25	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	1.05	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	0.2	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*1.5	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-6.66	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-2.46	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*1.6	1.13765
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*3.7	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	*-2.9	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	*1.4	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	0.55	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*1.85	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-6.31	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-2.11	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*1.95	1.13765
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*4.05	1.13765
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	*4.3	1.13765
Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*3.45	1.13765
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*4.75	1.13765
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-3.41	1.13765
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	0.79	1.13765
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*4.85	1.13765
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*6.95	1.13765
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	-0.85	1.13765
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	0.45	1.13765
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-7.71	1.13765
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-3.51	1.13765
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	0.55	1.13765
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*2.65	1.13765
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*1.3	1.13765
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-6.86	1.13765
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-2.66	1.13765
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*1.4	1.13765
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*3.5	1.13765
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-8.16	1.13765

Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-3.96	1.13765
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	0.1	1.13765
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*2.2	1.13765
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*4.2	1.13765
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*8.26	1.13765
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*10.36	1.13765
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*4.06	1.13765
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*6.16	1.13765
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*2.1	1.13765

-----  
\* denotes a statistically significant difference.

### The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 36 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 6 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### Multiple Range Tests for Cadmio by Planta

-----  
Method: 95.0 percent LSD

Planta	Count	Mean	Homogeneous Groups
Pa s/EDTA	3	0.35	X
Raíz Alf s/EDTA3		0.75	X
Pa c/EDTA	3	1.05	X
Hoja Alf s/EDTA3		1.6	X
Hoja Alf c/EDTA3		1.7	XX
Tallo Alf s/EDT3		2.0	X
Raíz Alf c/EDTA3		2.6	X
Raíz Pas c/EDTA3		3.41333	X
Tallo Alf c/EDT3		3.85	X
Raíz Pas s/EDTA3		4.41333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Hoja Alf c/EDTA - Hoja Alf s/EDTA	0.1	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Pa c/EDTA	*0.65	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Pa s/EDTA	*1.35	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-0.9	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*0.95	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-1.71333	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-2.71333	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-2.15	0.388187
Hoja Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	-0.3	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Pa c/EDTA	*0.55	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Pa s/EDTA	*1.25	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-1.0	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*0.85	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-1.81333	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-2.81333	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-2.25	0.388187
Hoja Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*-0.4	0.388187
Pa c/EDTA - Pa s/EDTA	*0.7	0.388187

Pa c/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-1.55	0.388187
Pa c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	0.3	0.388187
Pa c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-2.36333	0.388187
Pa c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-3.36333	0.388187
Pa c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-2.8	0.388187
Pa c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*-0.95	0.388187
Pa s/EDTA - Raíz Alf c/EDTA	*-2.25	0.388187
Pa s/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*-0.4	0.388187
Pa s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-3.06333	0.388187
Pa s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-4.06333	0.388187
Pa s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-3.5	0.388187
Pa s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*-1.65	0.388187
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Alf s/EDTA	*1.85	0.388187
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-0.813333	0.388187
Raíz Alf c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-1.81333	0.388187
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-1.25	0.388187
Raíz Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*0.6	0.388187
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas c/EDTA	*-2.66333	0.388187
-----		
Raíz Alf s/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-3.66333	0.388187
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-3.1	0.388187
Raíz Alf s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*-1.25	0.388187
Raíz Pas c/EDTA - Raíz Pas s/EDTA	*-1.0	0.388187
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*-0.436667	0.388187
Raíz Pas c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*1.41333	0.388187
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf c/EDTA	*0.563333	0.388187
Raíz Pas s/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*2.41333	0.388187
Tallo Alf c/EDTA - Tallo Alf s/EDTA	*1.85	0.388187

\* denotes a statistically significant difference.

#### The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 42 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 8 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## Fotos



Fig. 10 *Medicago sativa* L. cultivada en suelo de Cuemanco con EDTA



Fig. 9 *Medicago sativa* L. cultivada en suelo de Cuemanco sin EDTA



Fig. 11 *Cynodon dactylon* L. cultivado en suelo de Cuemanco sin EDTA



Fig. 12 *Cynodon dactylon* L. cultivado en suelo de Cuemanco con EDTA