



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

Fitorremediación del suelo de la mina La Blanca, Hidalgo,
con plantas de la especie *Cosmos bipinnatus*
y el género *Dahlia*.

TESIS

PARA OBTENER TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA

NUNGARAY ARTEAGA NANCY ERIBEL

ÁREA: CIENCIAS AMBIENTALES

LABORATORIO DE CONTAMINACIÓN Y
FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. GARCÍA AMADOR ESTHER MATIANA

FINANCIADO POR PROYECTO PAMIME:
PE202311



MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014

Dedicatoria

Este logro se lo dedico a mis padres, por todo lo que han hecho por mí, por educarme de la mejor manera, ya que a pesar de las adversidades lograron darme lo necesario para ser feliz, les agradezco la paciencia que me han tenido y por estar presentes en cualquier circunstancia, brindándome su apoyo incondicional.

A mis hermanos Sergio y Damaris, por ser mis cómplices, y estar ahí cuando los necesito, ayudándome y tratando de sacarme una sonrisa.

Gracias por aventurarse y compartir esta experiencia conmigo.

Agradecimientos

A mi querida universidad por albergarme en sus aulas, por todas las enseñanzas adquiridas y experiencias vividas es un orgullo pertenecer a la máxima casa de estudios

Agradezco a mi directora de tesis la Dra. Esther Matiana García Amador, por sus consejos académicos, disposición, atención y paciencia, para llevar a cabo éste proyecto y sobre todo por brindarme su amistad, ha sido un placer trabajar con usted.

Dra. María Socorro Orozco, por el espacio brindado para la realización de este trabajo, y a su contribución para la mejora de esta investigación.

Biól. Leticia López, por su sincera amistad y sus valiosas recomendaciones que ayudaron a enriquecer mi trabajo de tesis.

Biól. Aida Zapata, por las enseñanzas y facilidades brindadas en el laboratorio de absorción Atómica.

Biól. Ana Laura Maldonado, por sus acertadas observaciones, y contribución para la mejora de éste trabajo

A mis amigos, que me acompañaron a lo largo de mi carrera, con quienes compartí momentos inolvidables.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Suelo.....	3
2.1.1. Industria Minera.....	3
2.2. Metales Pesados.....	5
2.2.1. Características de los metales; Cd, Pb, Zn.....	6
2.2.1.1. Cadmio.....	6
2.2.1.2. Plomo.....	7
2.2.1.3. Zinc.....	8
2.2.2. Suelos contaminados por metales pesados.....	9
2.3. Biodisponibilidad.....	10
2.3.1. Metales pesados en las plantas.....	10
2.3.2. Transporte de los contaminantes inorgánicos.....	12
2.4. Biorremediación de suelos como estrategia de recuperación de suelos contaminados.....	13
2.4.1. Técnicas de Fitorremediación.....	15
2.5. Especies fitorremediadoras.....	18
2.5.1. Características botánicas y ecológicas de la familia asterácea.....	18
2.5.2. <i>Cosmos bipinnatus</i>	19
2.5.3. <i>Dahlia</i>	21
III. JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA	23
IV. PREGUNTAS A RESOLVER	25
V. HIPÓTESIS	26
VI. OBJETIVOS	27
6.1. Objetivo General.....	27
6.2. Objetivos Particulares.....	27
VII. MÉTODO	28
7.1. Zona de estudio.....	28

7.2. Trabajo en campo.....	30
7.3. Preparación del sustrato/diseño experimental.....	30
7.4. Material biológico.....	31
7.4.1. Germinación.....	31
7.5. Adición de metales pesados a los diferentes tratamientos....	32
7.6. Medición y variables.....	33
7.6.1 Plagas.....	33
7.7. Cosecha.....	34
7.8. Digestión.....	34
7.9. Estimación de índices y coeficientes.....	35
7.9. Índice de tolerancia.....	35
7.9.2. Factor de translocación.....	36
7.10. Análisis estadístico.....	36
7.11. Determinación de parámetros físicos y químicos.....	36
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
8.1. Parámetros físico químicos.....	39
8.2. Supervivencia de <i>Cosmos bipinnatus</i>	43
8.3. Altura de <i>Cosmos bipinnatus</i>	44
8.4. Número de hojas de <i>Cosmos bipinnatus</i>	45
8.5. Cobertura de <i>Cosmos bipinnatus</i>	47
8.6. Supervivencia de <i>Dahlia</i>	48
8.7. Altura de <i>Dahlia</i>	49
8.8. Número de hojas de <i>Dahlia</i>	51
8.9. Cobertura de <i>Dahlia</i>	53
8.10. Metales pesados en el suelo.....	54
8.11. Metales pesados en las estructuras de <i>Cosmos</i> <i>bipinnatus</i>	55
8.11.1. Cadmio en <i>Cosmos bipinnatus</i>	57
8.11.2. Plomo en <i>Cosmos bipinnatus</i>	58
8.11.3. Zinc en <i>Cosmos bipinnatus</i>	60

8.12. Metales pesados en las estructuras de <i>Dahlia</i>	61
8.12.1. Cadmio en <i>Dahlia</i>	62
8.12.2. Plomo en <i>Dahlia</i>	64
8.12.3. Zinc en <i>Dahlia</i>	67
8.13. Índice de tolerancia.....	69
8.14. Factor de translocación.....	71
IX. CONCLUSIONES	73
X. BIBLIOGRAFÍA	74
XI. ANEXOS	85

Índice de figuras.

Figuras	Pág.
1. Proceso general de fito-extracción.....	17
2. <i>Cosmos bipinnatus</i>	19
3. <i>Dahlia</i>	21
4. Ubicación del estado de Hidalgo.....	28
5. Pachuca de Soto.....	28
6. Vegetación de la mina la Blanca	29
7. Semillero de <i>Cosmos bipinnatus</i> y <i>Dahlia</i>	31
8. Digestión digestión triácida.....	35
9. Porcentaje de supervivencia de <i>Cosmos bipinnatus</i>	43
10. Altura de <i>Cosmos bipinnatus</i> durante el tratamiento.....	44
11. Número de hojas <i>Cosmos bipinnatus</i>	45
12. Hojas secas de <i>Cosmos bipinnatus</i>	46
13. Flor de <i>Cosmos bipinnatus</i> 100%.....	46
14. Flor de <i>Cosmos bipinnatus</i> 80%.....	46
15. Cobertura de <i>Cosmos bipinnatus</i>	47
16. Porcentaje de supervivencia de <i>Dahlia</i>	48
17. Crecimiento de <i>Dahlia</i>	49
18. Altura de <i>Dahlia</i>	50
19. Número de <i>Dahlia</i>	51
20. Hoja de <i>Dahlia</i> con hongo.....	52
21. Cobertura de <i>Dahlia</i>	53
22. Hoja de <i>Cosmos bipinnatus</i>	56
23. Concentración de cadmio en <i>Cosmos bipinnatus</i>	57
24. Concentración de plomo en <i>Cosmos bipinnatus</i>	58
25. Brotes de <i>Cosmos bipinnatus</i>	59
26. Concentración de Zinc en <i>Cosmos bipinnatus</i>	60
27. Cadmio en las diferentes estructuras de <i>Dahlia</i> (raíz, tallo y hoja).....	63

28.	Concentración de Plomo en las diferentes estructuras <i>Dahlia</i> (raíz, tallo y hoja).....	66
29.	Concentración de Zinc en las diferentes estructuras <i>Dahlia</i> (raíz, tallo y hoja).....	68
30.	Raíz de <i>Cosmos bipinnatus</i> 100%.....	70
31.	Raíz de <i>Dahlia</i>	70

Índice de cuadros

Cuadro	Pag.
1.- Preparación del sustrato.....	30
2.- Capacidad de Campo de los diferentes tratamientos empleados.....	32
3.- Metales pesados: rango normal, concentraciones críticas en plantas y concentraciones empleadas en la investigación....	33
4.- Método por el cual se evaluaron los parámetros físicos y químicos.....	37
5.- Parámetros físico - químicos del suelo.....	38
6.- Concentración de metales pesados en el suelo mg/kg de suelo.....	54
7.- Concentración de Metales pesados en las diferentes estructuras de la planta.....	55
8.- Cadmio en la estructura de <i>Dahlia</i>	62
9.- Plomo en las estructuras de <i>Dahlia</i>	64
10.- Zinc en <i>Dahlia</i>	67
11.- Índice de tolerancia.....	69
12.- Factor de traslocación en tallo y hoja de <i>Dahlia</i>	71

RESUMEN

La excavación de minas ha causado gran impacto en el medio ambiente, provocando la pérdida de la cubierta vegetal y una elevada contaminación de suelos por metales pesados, al ser elementos tóxicos representan un peligro para la salud humana, por ello es importante recuperar estos sitios, para lograrlo se han implementado diversas técnicas de biorremediación, entre la que destaca la fitorremediación por su capacidad de reducir o inmovilizar metales pesados. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad fitorremediadora de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* para recuperar suelos contaminados con Cd, Pb y Zn. El desarrollo experimental se realizó a nivel de vivero, se elaboraron seis tratamientos diferentes, de 0 a 100% (v/v) de suelo contaminado, donde el tratamiento testigo fue suelo fértil (tomado del Parque Ecológico Cubitos) y el tratamiento de 100% contenía solo suelo contaminado (suelo de mina).

El índice de tolerancia fue mayor en *Dahlia* con valores que se encuentran entre 111.07-225.95%, que en *Cosmos bipinnatus* donde el índice de tolerancia esta entre 87.16-156.50%. Debido a que *Cosmos bipinnatus* presento poca biomasa se juntaron las tres estructuras de la planta (raíz, tallo, hoja) para hacer el análisis, encontrando así, concentraciones críticas de Cd (7.94-69.50mg/kg), y Pb (87.22-813.64mg/kg) en todos los tratamientos, a excepción del Zn que solo muestra concentraciones críticas en el testigo y el tratamiento de 40%. *Dahlia* tuvo mayor cantidad de

biomasa, es por ello que los ejemplares fueron divididos en sus diferentes estructuras (raíz, tallo y hoja) obteniendo concentraciones críticas de Cd en raíz (36.92-61.25 mg/kg) tallo (25.28-75.33 mg/kg) y hoja (15.40–75.83 mg/kg) al igual que Pb en raíz (349.17–583.33 mg/kg) tallo (200.00–866.67 mg/kg) y hoja (164.00–778.33 mg/kg) en todos los tratamientos, con respecto al Zn solo se encontraron concentraciones críticas en la raíz del tratamiento de 40% (128.02 mg/kg) en el tratamiento de 100% en el tallo (108.00 mg/kg) y en los tratamientos de 60 y 80% en la hoja (103.25–134.91 mg/kg). De acuerdo al factor de traslocación, el tallo de *Dahlia* hiperacumulo Pb (1.10–2.03 mg/kg) a excepción de los tratamientos de 40 y 60%, Cd (1.06–1.82 mg/kg) en todos los tratamientos excepto 40% y Zn (1.03–1.37 mg/kg) en los tratamientos 20, 60, 80 y 100%. La hoja de *Dahlia* se considera hiperacumuladora de Pb (1.07–1.33) y Cd (1.00–1.43) en los tratamientos 20, 80 y 100%, y de Zn en todos los tratamientos excepto 40%. La habilidad observada en estas dos especies ornamentales para tolerar Cd, Pb, Zn, así como para acumular diferentes metales en la parte aérea de la planta, permite sugerir su uso para cubrir suelos contaminados y disminuir los riesgos ambientales por contaminación de suelos, además de embellecer el entorno de las zonas mineras.

I. INTRODUCCIÓN

Un suelo contaminado es aquel donde se encuentra una sustancia en concentración superior a los niveles naturales y tiene un impacto negativo en alguno o todos los constituyentes del mismo. Los niveles para considerar un suelo contaminado dependen del elemento en cuestión, uso del suelo y la legislación de cada país (Bernal, Clemente, Vázquez, & Walter, 2007).

Actualmente es por todos conocido que la contaminación de suelos y cuerpos de agua es provocada por diversas actividades antropogénicas, como el empleo de agroquímicos en suelos fértiles, riego con aguas residuales y la minería, que es una actividad que lleva más de cuatrocientos años y ha dejado los sitios que se ocupan para esta actividad, sin vegetación y con grandes cantidades de diversos materiales potencialmente tóxicos como los metales pesados, debido principalmente a la remoción de los minerales, y al proceso de extracción, que causan severos daños ambientales, a los cuales se exponen las poblaciones, flora y fauna, a través del suelo, aire o de agua contaminada (Salas, 2007; Hernández, 2009; Zhang, Xia, Li, Zhuang & Gao, 2010).

Entre las estrategias que se han empleado para extraer o inmovilizar a los metales pesados del ecosistema se tiene a la fitorremediación, esta es una de las vertientes de la biorremediación y puede considerarse una tecnología alternativa, rentable y sostenible, para la recuperación de suelos y sedimentos contaminados, que se basa en el uso de la vegetación como principal agente descontaminante. La técnica es aplicable a suelos y sedimentos contaminados, tanto por metales pesados como por compuestos orgánicos (Batista & Sánchez, 2009).

Por lo que, el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* para ayudar a la recuperación de la cubierta vegetal y eliminar metales pesados derivados del proceso de minería como son el Cd, Pb y Zn del suelo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Suelo

El suelo es un componente esencial del medio ambiente, base del ecosistema terrestre, principio de muchas cadenas tróficas y soporte del medio urbano e industrial. Dentro de sus funciones actúa como tampón, controlando el transporte de elementos químicos y sustancias hacia la atmósfera, hidrosfera y biosfera (Kabata-Pendías & Pendias, 2000). Sin embargo este puede verse afectado por las diversas actividades del hombre.

2.1.1. Industria Minera

México es uno de los países de Latinoamérica que se encuentra localizado en una región volcánica rica en minerales. La tradición minera en el país se remonta a la época prehispánica, con la explotación de yacimientos ubicados principalmente en las zonas de Taxco, Pachuca, Guanajuato y Querétaro. Dicha actividad tuvo gran relevancia económica y social hasta el periodo de la colonia (Gómez, Santana, Romero, Armienta, Morton & Ruiz, 2010) adquiriendo mayor poder en la industria de la construcción, metalurgia, siderurgia y química por más de tres siglos, ayudando a generar infraestructura y polos de desarrollo en el país. Bajo este contexto, la nueva España llegó a ser el primer productor de plata en el mundo, esto originó

que la actividad minera creciera dejando de lado actividades agropecuarias (Menéndez, 2009), a nivel mundial, el auge de la minería mexicana se tradujo en un importante flujo de metales preciosos, especialmente plata, hacia los circuitos comerciales europeos (Volke, Velasco & Rosa, 2005). La excavación de minas, la remoción de minerales, el proceso y la extracción de metales, puede causar daños ambientales; entre los que se encuentran la contaminación de suelos y acuíferos, la pérdida de la cobertura vegetal y la formación de estructuras poco consolidadas susceptibles a la erosión eólica e hídrica y, en casos extremos, destruir el ecosistema (Salas, 2007).

Los minerales se extraen y se concentran al utilizar métodos físicos, posteriormente se separa la fracción económicamente redituable por gravimetría. Los materiales con baja concentración de metal, se retiran en forma de lodos que contienen altas cantidades de elementos potencialmente tóxicos (EPT). Los lodos son depositados en tinajas que en México se denominan presas de jales, estos materiales son difíciles de eliminar, ya que pueden permanecer durante décadas en el suelo e incorporarse en la cadena trófica (González, Pérez & Carillo, 2005) el mayor problema ambiental, está relacionado con el nivel de metales residuales sin valor económico que contaminan el suelo, ya sea: a) físicamente, afectando la textura, estructura, estabilidad y baja retención de agua, ausencia de materiales finos formadores de suelo; b) químicamente, con alteración del pH, déficit de

nutrientes y exceso de metales tóxicos. c) biológicamente, mediante el descenso o eliminación de microorganismos del suelo y de los organismos mayores, ruptura de los ciclos biogeoquímicos (Duran, 2010; Rodríguez *et al.*, 2009; Salas, 2007).

2.2. Metales pesados

Se definen como metales pesados a aquellos elementos químicos que tienen una densidad mayor que 5 g/cm^3 o cuyo número atómico es superior a 20 excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos (Diez, 2008). Pero este término se suele utilizar en el lenguaje corriente con una connotación negativa, que hace referencia al riesgo de toxicidad que genera su presencia, cuando supera determinados niveles en el suelo. Para un mejor entendimiento de los principios que rigen el comportamiento del suelo es esencial conocer la asociación de los elementos traza con la fase particular del suelo y su afinidad hacia cada constituyente, (Kabata-Pendias & Pendias, 2000). Para un adecuado equilibrio del ecosistema, el contenido de metales pesados en suelos, debe ser únicamente en función de la composición del material original y de los procesos edafogénicos que en él tienen lugar; sin embargo, las actividades antropogénicas han ocasionado que se incremente el contenido de estos metales en el suelo, siendo esta, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas (Galán & Romero, 2008; Duran, 2010).

Algunos metales juegan un papel dual, al ser esenciales para el desarrollo de las plantas y a su vez pueden ser dañinos a altas concentraciones. La habilidad que tienen las plantas de impedir la incorporación de metales, es limitada y depende del proceso de acumulación de los elementos en el suelo. La reducción en la capacidad de exclusión por parte de la planta está en función del incremento de la cantidad de estos elementos (Cruz, 2010).

2.2.1. Características de los metales; Cd, Pb, Zn

Los elementos potencialmente tóxicos más comunes derivados del proceso de minería en el caso de México son Pb, Cd, Zn, As, Se, y Hg (Hernández, 2009).

2.2.1.1. Cadmio

Pertenece al grupo IIB de la tabla periódica, tiene un estado de oxidación estable de Cd^{2+} , su peso atómico es de 122.4 y una densidad de 8.65 g/cm^3 , es considerado, pese a su relativa escasez, como un contaminante potencial para el medio ambiente, ya que no tiene una función biológica esencial y es altamente tóxico para los seres vivos (Scoullou, Vonkenman, Thornton & Makuch, 2009). El equilibrio dinámico entre el Cd y el suelo depende del pH, la naturaleza química del metal, la estabilidad de complejos, fuerza de enlace de los grupos funcionales y la competencia con otros iones metálicos (Das, Samantaray & Rout, 1997).

Se ha encontrado que este ion predomina a pH arriba de 6.5 como sulfato de cadmio o cloruro de cadmio (Cruz, 2010) y se absorbe más fácilmente sobre la superficie del suelo que otros metales. De acuerdo a Bautista (1999) la concentración de Cd promedio en los suelos es de 0.07 a 1.1 mg/kg.

Las plantas tiene una sensibilidad variable frente a este elemento con unos niveles entre 0.2 a 0.9mg/kg, aunque en general niveles de 3mg/kg se consideran suficientes para afectar su crecimiento, el Cd en plantas provoca enrollamiento de las hojas, clorosis y reduce el crecimiento tanto en las raíces como en los tallos (Toppi & Gabbrielli 1998).

2.2.1.2. Plomo

Se ubica en el grupo IV-A en la tabla periódica. En el suelo se encuentra principalmente en forma de Pb^{2+} , aunque también se conoce su estado de oxidación Pb^{4+} . (Grupta, Huang & Corpas, 2013; Hernández, 2009). Dicho metal se acumula en las capas superficiales del suelo por su baja solubilidad y relativa inmunidad a la degradación microbiológica (Cruz, 2010) por lo tanto, es difícil medir confiablemente su concentración. Su disponibilidad depende de las condiciones del suelo, como el tamaño de partícula, la capacidad de intercambio catiónico y de factores de las plantas, como la superficie y exudados de la raíz, micorrización y de la transpiración (Salas, 2007).

Los síntomas específicos de toxicidad por Pb en las plantas son la inhibición del crecimiento de la raíz, retraso en el crecimiento de la planta y clorosis. Cuando el Pb entra en las células de la planta, produce varios efectos adversos en los procesos fisiológicos entre los que se encuentra; inhibición de la actividad enzimática, alteración de la nutrición mineral, desequilibrio hídrico, cambios en el estado hormonal y alteración en la permeabilidad de la membrana celular. Estos trastornos fisiológicos por las altas concentraciones de Pb pueden llevar a la muerte de la planta (Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez & Villegas, 2011).

2.2.1.3. Zinc

Pertenece al grupo IIB de la tabla periódica, tiene un peso atómico de 65.4 y una densidad de 7.14 g/cm³, es considerado por su relativa abundancia como uno de los principales contaminantes potenciales para el medio ambiente (Broadley, White, Hammond, Zelko & Lux, 2006) presenta un estado de oxidación estable de Zn²⁺, que es la forma asimilable para las plantas, es un elemento muy conocido en suelos por la complejidad de su comportamiento químico y por su elevada solubilidad. El contenido en los suelos normales es de 10 a 300 ppm, el exceso de Zn, puede presentar una intoxicación en las plantas (Kabata-Pendias & Pendias 1992).

2.2.2. Suelos contaminados por metales pesados

La contaminación del suelo por metales pesados esta fundamentalmente relacionada con diferentes tipos de actividades antropogénicas. Una vez en el suelo, los metales pesados, quedan retenidos o bien se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida, mediante diferentes mecanismos físicos, químicos, y biológicos. (Han, Banin, Kingery, Triplett, Zhou & Zheng, 2003; Capena & Bernal, 2007).

En general, los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir diferentes vías de Movilización, (Palacios & Sánchez, 2006; Duran, 2010).

- ❖ Quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución del suelo o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación
- ❖ Son absorbidos por las plantas, posteriormente se incorporan a las cadenas tróficas
- ❖ Pasan a la atmosfera por volatilización
- ❖ Puede movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas

2.3. Biodisponibilidad.

El termino de biodisponibilidad se refiere a la capacidad de un elemento para pasar de un compartimento cualquiera del suelo a un ser vivo. Esta movilidad, que se define como la aptitud de transferencia de metales pesados entre compartimentos, está determinada por la forma, el número de cargas y la energía de retención de los metales pesados y se ve influenciada por factores externos (pH, temperatura, humedad, ambiente químico etc.) aunque también se puede asociar con el uso de suelo. (Duran 2010; Cruz 2010).

2.3.1. Metales pesados en las plantas

La forma asimilable de los metales en el suelo para las plantas es la intercambiable, la cual consiste en que un ion esencial que utiliza la planta es inhibido por otro no esencial que lo sustituye. Cabe mencionar que ambos iones esenciales y no esenciales en exceso son tóxicos para las plantas (Alloway, 1990) y pueden alterar muchos procesos bioquímicos y fisiológicos, como son: la inhibición del crecimiento y desarrollo de las plantas, además de dañar las membranas de las células, reduce la transpiración, impide la síntesis de proteínas, daña e inhibe la fotosíntesis y afecta la actividad de varias enzimas. (Toppi & Gabbrielli, 1998; Hernández, 2009).

De acuerdo a Alloway (1990) la cantidad de metales pesados absorbidos por la planta están en función de:

- ❖ La concentración y especiación química del metal en la solución del suelo
- ❖ El movimiento del metal en el suelo.
- ❖ Transporte del metal de la superficie de la raíz hasta su interior.
- ❖ La translocación del metal de la raíz hasta los brotes.

El mecanismo de toxicidad para un metal en específico implica diversas vías metabólicas en diferentes especies de plantas. La resistencia que representan las plantas a los metales suele manifestarse a través de dos estrategias diferentes:

La evasión: es la capacidad de la planta para prevenir una captación excesiva del metal en su cuerpo.

La tolerancia: definida como, la capacidad que posee la planta para resistir los metales que se acumulan de manera excesiva en su cuerpo. Los tipos de mecanismos de tolerancia de metales pesados en plantas incluye: Absorción Selectiva de iones, decremento de la permeabilidad de membrana u otras diferencias en la estructura y función de las membranas, inmovilización de los iones en raíces, hojas y semillas, traslado de iones desde el metabolismo por depósito (almacenamiento) en formas fijas e insolubles, alteración en los modelos metabólicos, liberación de iones de la raíz de la planta por excreción y caída de las hojas (Alloway, 1990).

2.3.2. Transporte de los contaminantes inorgánicos

De acuerdo a Delgadillo, González, Prieto, Villagómez & Acevedo (2011) los mecanismos de tolerancia varían entre las distintas especies de plantas y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción y traslocación. Las fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes:

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica.

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas. Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al

glutación. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos.

Las metalotioneinas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu.

Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola.

2.4. Biorremediación de suelos como estrategia de recuperación de suelos contaminados

En la legislación mexicana (NOM-147 SEMARNAT/SSA 1-2004) el término remediación de suelos se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y restablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva.

Las técnicas biológicas, o biorremediación, tienen como objetivo básico promover los procesos naturales (Bernal *et al.*, 2007) a partir de organismos vivos (plantas, hongos, bacterias entre otros) para remover, degradar o transformar compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos (Boopathy, 2000) esta metodología es relativamente reciente y presenta varias ventajas respecto a los métodos físicos - químicos tradicionales, algunas de estas ventajas son: Bajos costos de instalación y operación, es una tecnología simple y de fácil aplicación, es un tratamiento seguro con un mínimo de riesgos a la salud y es tecnológicamente efectivo (Salas, 2007; Franco, Vásquez, Patiño & Dendooven, 2010). Al igual que otras tecnologías de remediación, la biorremediación puede realizarse en el mismo sitio sin necesidad de excavar el material contaminado (in situ), o bien excavándolo para tratarlo en el sitio (in situ) o fuera de él (ex situ) (Volke *et al.*, 2005).

Entre las estrategias que se han empleado para extraer o inmovilizar a los metales pesados del ecosistema se tiene a la fitorremediación, esta es una de las vertientes de la biorremediación y puede considerarse una tecnología alternativa, rentable y sostenible, para la recuperación de suelos y sedimentos contaminados, que se basa en el uso de la vegetación como principal agente descontaminante. La técnica es aplicable a suelos y sedimentos contaminados, tanto por metales pesados como por compuestos orgánicos (Batista & Sánchez, 2009).

2.4.1. Técnicas de Fitorremediación

La desintoxicación de contaminantes por fitorremediación se realiza empleando al menos uno de los siguientes mecanismos: fitoextracción, fitoestabilización, fitodegradación, fitovolatilización, rizodegradación. De acuerdo a López, Gallegos, Pérez & Gutiérrez (2005); Singh, Labana, Landey & Budhijara, (2003), estas técnicas de fitorremediación se describen de la siguiente manera:

* *Fitoextracción o fitoacumulación*: consiste en la absorción y translocación de los metales desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas. Estas posteriormente se cortan y se incineran o son acumuladas para reciclar los metales.

**Fitoestabilización*: se basa en el uso de plantas tolerantes a metales para inmovilizarlos a través de su absorción y acumulación en las raíces o precipitación en la rizósfera, disminuyendo su movilidad y biodisponibilidad para otras plantas o microorganismos en suelos donde la gran cantidad de contaminantes imposibilita la fitoextracción.

* *Fitodegradación*: consiste en la transformación de los contaminantes orgánicos en moléculas más simples. En determinadas ocasiones, los productos de la degradación le sirven a la planta para acelerar su crecimiento, en otros casos los contaminantes son biotransformados.

* *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 atmósfera.

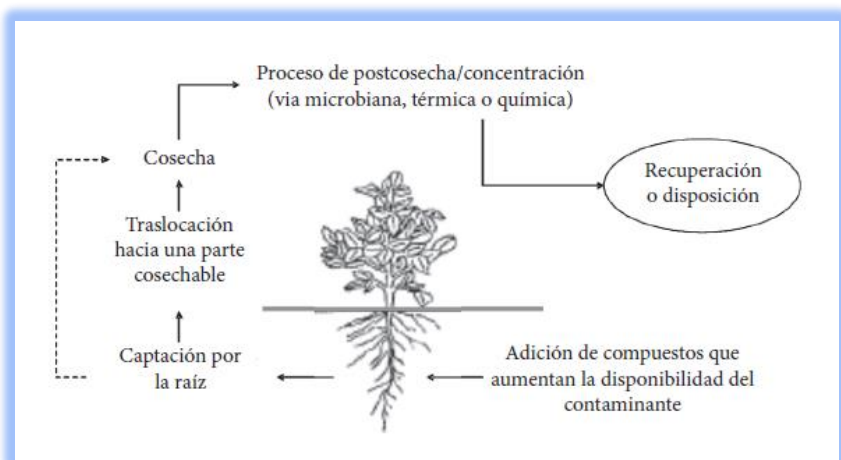
* *Rizodegradación*: las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos.

El éxito de cualquier estrategia de fitorremediación depende de la identificación de especies de plantas adecuadas, ya que deben de contar con valores ecológicos deseables, que propicien diversidad de hábitats apropiados para otras especies y también económicos en los que se puedan aprovechar alguno de los recursos sin que estos sean peligrosos para la salud (Roos, 1994), que acumulen altas concentraciones de metales y produzcan grandes cantidades de biomasa (Rivera, Ferrera, Sánchez, Volke, Fernández & Rodríguez, 2004; Rodríguez (b) *et al.*, 2009).

Pocas son las especies de plantas adaptadas para sobrevivir en suelos contaminados con altas concentraciones de metales, ya que estos provocan un estrés oxidativo. Al existir estrés, se ve afectada la fotosíntesis, fluorescencia de la clorofila y resistencia estomática (Monni, Uhlig, Hasen & Magel, 2001).

Se deben tener en cuenta que al terminar el proceso de fitorremediación se debe manejar adecuadamente el material vegetal contaminado, algunas especies no van a acumular niveles significativos de contaminante y las que si lo acumulan al ser cosechadas necesitan ser recicladas o dispuestas de acuerdo a las regulaciones establecidas (Roos, 1994).

Figura 1. Proceso general de fito-extracción



Fuente. Volke *et al.*, 2005.

2.5. Especies fitorremediadoras

Se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio, para la fitorremediación. A la fecha, se han identificado 163 taxones de plantas, pertenecientes a 45 familias, tolerantes a metales y capaces de crecer en concentraciones elevadas. Entre las angiospermas se han identificado cerca de 400 hiperacumuladoras; entre las familias dominantes se encuentran: Asteráceas, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabáceas, Flacourtiáceas, Lamiaceae, Poaceae, Violáceas y Europhobiaceae. De estas familias, Brassicaceae tiene el mayor número de taxones, 11 géneros y 87 especies, con capacidad para hiperacumular metales (Nabulo, Black & Young, 2011; Salas, 2007).

2.5.1. Características botánicas y ecológicas de la familia

Asteraceae

La familia Asteraceae incluye especies vegetales con gran variación de formas de vida, se adaptan a diversas condiciones edafológicas y climatológicas. Es el grupo de plantas con flores más diverso en México y cerca del 63% de sus especies son endémicas (Rodríguez, Delgado, González, González, Mejía, Hernández (a) *et al.*, 2009) pero son poco estudiadas en sitios contaminados con metales pesados

México posee una amplia gama de especies ornamentales sin embargo, para este estudio se eligió a *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*, ya que de acuerdo a un estudio realizado en la mina “El Bote” en el estado de Zacatecas (Rodríguez (a) *et al.*, 2009), se evaluó la emergencia, crecimiento de estas especies, en el estado de plántula (17 días después de la siembra), y se reportó que estas especies pueden ser consideradas como especies indicadoras de metales pesados.

2.5.2. *Cosmos bipinnatus*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Cosmos</i>
Especie	<i>C. bipinnatus</i>



Figura 2. *Cosmos bipinnatus*

El género *Cosmos* Cav. (Asteraceae) (Figura 2) es un muy buen ejemplo de la diversidad y endemidad de este grupo de plantas en México. El nombre del género *Cosmos* viene de griego y significa “algo bello”.

Cosmos agrupa a 34 especies y 13 taxones intraespecíficos. La mayoría de las especies crecen en México pero su distribución geográfica se extiende desde los Estados Unidos de Norteamérica hasta Perú y Bolivia. Sus inflorescencias (cabezuelas) son muy vistosas, lo que convierte a estas plantas como elementos de ornato. (Soto & German, 2010).

La especie de *Cosmos bipinnatus*, se propaga por semilla, su ciclo de vida es anual de verano (marzo a agosto), su altura oscila entre 60-200cm, sus hojas son lineares pinatisectas, florece de septiembre a noviembre, las cabezuelas tienen ocho flores liguladas de color rosa a púrpura y excepcionalmente blancas; el centro de las flores (las flores tubulares) son amarillas. (Rodríguez, Harker, Quezada & Casillas, 2006; Villegas & Gante 1979).

Se desarrollan de manera adecuada en espacios soleados y sobre suelos bien drenados con un pH neutro. Crece en suelos pobres, idealmente en climas secos y cálidos; de hecho, el cultivo debe hacerse de preferencia a una temperatura de 25°C.

2.5.3. *Dahlia*.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Dahlia</i>



Figura 3. *Dahlia*

La *Dahlia* (Figura 3) es originaria de los altos valles de naturaleza arcillo-silíceas de México. Es una planta herbácea, con raíces carnosas llamados impropriamente tubérculos, poseen unas hojas de forma triangular, de margen denticulado y una nerviación unifoliada, el color del follaje es verde pálido, careciendo de un brillo especial. La *Dahlia* es una planta que podemos encontrar con diferentes tamaños desde 30 cm hasta 120 cm de altura. Esta desarrolla una ramificación desordenada, solamente dirigida por los rayos solares, pero forma una mata densa, con un gran número de hojas. Las cabezuelas son radiadas teniendo un diámetro de hasta 15cm, son erectas o inclinadas, con flores liguladas muy variables de color púrpura claro, amarillo o rosa en la base.

Las flores son de disco y en ocasiones son sustituidas por flores liguladas fértiles o estériles. La *Dahlia* desarrolla una raíz tuberosa que puede ser utilizada en la propagación vegetativa (Castro, Rodríguez, Vargas & Hacker, 2012).

Es una planta rústica en cuanto a suelos, aunque prefiere los suelos francos, con un perfecto drenaje y con un pH comprendido entre 6 y 8; y que posea además un elevado contenido de materia orgánica y nutrientes. Prefiere temperaturas que oscilen entre 18 y 23°C y una humedad relativa del 75 al 78%. Las *Dahlia* son plantas que se cultivan en zonas soleadas, aunque también las podemos encontrar en semisombra, florecen generalmente en noviembre.

III. JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA

Debido al costo que representan los métodos convencionales para descontaminar suelos, existe un gran interés tanto científico como comercial en los métodos alternativos de bajo costo, como es la fitorremediación, esta es una técnica que ecológicamente hablando es muy amigable con el medio ambiente dado que se basa únicamente en el uso de diversas especies de plantas para recuperar las condiciones deseables de un determinado sitio.

En este estudio se pretende investigar si las especies *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*, llegan a la etapa de floración, además de evaluar si son especies tolerantes o acumuladoras de metales pesados, si los resultados son positivos, esta sería una alternativa, para la recuperación de la cubierta vegetal de los sitios deteriorados por actividades mineras.

Se eligieron las especies *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* debido a que en la bibliografía se encontró que estas especies son tolerantes a metales pesados, sin embargo no se ha evaluado su crecimiento hasta la madurez. Además estas especies son de rápido crecimiento y soportan altas temperaturas.

Para efectuar este proyecto se tomó en consideración realizar varias mezclas con diferentes concentraciones de suelo contaminado (suelo de mina) y con suelo fértil (tomado del Parque Ecológico de Cubitos) con el fin de conocer la eficiencia de cada especie para acumular metales en sus tejidos y su resistencia a diferentes concentraciones de metales pesados, así como las condiciones necesarias para su desarrollo, e identificar el sustrato que se debe emplear para obtener mayor cantidad de biomasa y por ende mayor absorción de metales pesados.

IV. PREGUNTAS A RESOLVER

La excavación de minas ha causado gran impacto en el medio ambiente, dejando los sitios que se ocupan para esta actividad sin vegetación y con grandes cantidades de diversos materiales potencialmente tóxicos. Es por ello que se han empleado diversas estrategias tales como la fitorremediación para recuperar estos sitios, por ello es que en esta investigación se plantea la siguiente problemática:

¿*Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* llegarán a la etapa de floración al crecer en un suelo contaminado?

¿Se podrán considerar como fitorremediadoras de metales pesados?

¿Los contaminantes serán traslocados hasta las hojas y flores?

¿En qué parte de la planta se va a retener la mayor cantidad de metales?

¿Cómo se ve afectada la supervivencia, altura y la cantidad de biomasa producida por *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* en cada tratamiento?

V. HIPÓTESIS

Los individuos de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia* tendrán un desarrollo deficiente en comparación al testigo debido a la acumulación de metales pesados en sus tejidos.

Cosmos bipinnatus y *Dahlia*, son fitoextractoras de Cd, Pb y Zn presentes en suelos de mina, por lo que ayudan a la descontaminación de estos sitios.

Dahlia es hiperacumuladora de Cd y Pb en su parte aérea, por lo tanto esta especie representa una alternativa para recuperar suelos contaminados.

VI. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Evaluar la capacidad fitoacumuladora de metales pesados (Cd, Pb, Zn) en *Cosmos bipinnatus* Cav. y *Dahlia* Cav.

6.2. Objetivos Particulares

Evaluar el efecto de los metales pesados (Cd, Pb y Zn) contenidos en suelo de mina, en el desarrollo de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*.

Determinar la concentración de metales pesados (Cd, Pb y Zn), absorbidos en los diferentes órganos de la planta raíz, tallo, hoja.

Evaluar el potencial fitorremediador de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*.

VII. MÉTODO

7.1. Zona de estudio.

La Mina la Blanca se ubica en Pachuca de Soto, Hidalgo, (Figura 4 y 5) formando parte del centro-oriente de México. La ciudad de Pachuca de Soto colinda al: Norte con Mineral del Chico y con Mineral del Monte, al sur con Zempoala y Zapotlán de Juárez; al este con Mineral de la Reforma y Epazoyucan, y al oeste con San Agustín Tlaxiaca. Se encuentra en la región geográfica del estado de Hidalgo, denominada Comarca Minera (www.smg.gob.mx).



Figura 4.
Ubicación del estado de Hidalgo



Figura 5. Pachuca de Soto

Se ubica en la provincia del Eje Neovolcánico, formado por llanuras en la mitad de su territorio, con lomeríos en un 25%; y de sierra el porcentaje restante. Entre los cerros que más destacan son el cerro del Cuixi, siendo una pequeña elevación que se encuentra al noreste de la ciudad, y el cerro de San Cristóbal teniendo al sureste el cerro de Cubitos.

El clima en Pachuca es templado semi-frío y con lluvias en verano, su precipitación pluvial es de 400 a 800 mm anual. Su temperatura promedio anual es de 24 grados centígrados.

En los alrededores del municipio se pueden encontrar nopales, huizache, maguey, biznaga, panza agria, guarín, encino, panza de madroño, oyamel y trigüeño. Con respecto a la fauna, se pueden encontrar especies; tales como la ardilla, tuza, ratón de campo, armadillo y pájaros de diferentes especies.

El tipo de suelo del que goza el municipio, es de buena calidad, de tipo Feozem en 90%, Cambisol en 5%, Litosol en 4% y Regosol en 1%.

La ubicación geográfica de La Mina la Blanca es:

20° 07.041' N 98° 41.373' W .

Vegetación del sitio: Nicotiana, Pirul y Opuntias, herbáceas de las familias gramineae y compositae. Restos de lo que fue matorral xerófilo. (figura 6)



Figura 6.
Vegetación en la mina la Blanca

7.2. Trabajo en campo.

Se realizó un recorrido por la mina la Blanca y el Parque Ecológico de Cubitos, se eligieron varios puntos al azar y se tomaron 186 kg de suelo, el suelo recolectado se tamizó y posteriormente se elaboró una muestra compuesta, de la cual se tomó una muestra, para analizar la concentración de metales disponibles y totales en el suelo por medio de absorción atómica y se realizaron análisis físicos y químicos de acuerdo a la NOM-021 RECNAT-2000.

7.3. Preparación del sustrato/diseño experimental.

Una vez que se obtuvo la muestra compuesta, se llenaron bolsas de vivero de 25 x 25 cm, con capacidad de 2.5 kg, de acuerdo al siguiente diseño:

Cuadro 1. Preparación del sustrato.

Tratamiento	Suelo de mina	Suelo de cubitos
<i>Testigo</i>	0 g	2500g
Concentración 20%	500g	2000g
Concentración 40%	1000g	1500g
Concentración 60%	1500g	1000g
Concentración 80%	2000g	500g
Concentración 100%	2500g	0g

7.4. Material biológico.

Se emplearon 36 semillas comerciales de *Cosmos bipinnatus* y 36 *Dahlia*.

7.4.1. Germinación.

Se obtuvieron semillas comerciales de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*, las cuales se pusieron a germinar en cajas Petri, después de lavar con una solución de hipoclorito al 5% para desinfectar.

Después de siete semanas de incubación, las plantas alcanzaron un tamaño aproximado de 5 cm (Figura 7), se trasladaron de los semilleros a los tratamientos correspondientes en bolsas de 2.5 Kg que se mantuvieron bajo condiciones de vivero durante 16 semanas.

Se emplearon 6 plántulas por tratamiento, dando un total de 36 plántulas por especie.



Figura 7.
Semillero de *Cosmos bipinnatus* y *Dahlia*

El riego se hizo cada tercer día de forma manual y se mantuvo a capacidad de campo, aplicando agua destilada.

Cuadro 2. Capacidad de Campo de los diferentes tratamientos empleados.

Tratamiento	Capacidad de campo. CC
Testigo	25 ml
Concentración 20%	37 ml
Concentración 40%	43 ml
Concentración 60%	54 ml
Concentración 80%	65 ml
Concentración 100%	75 ml

7.5. Adición de metales pesados a los diferentes tratamientos.

Debido a la baja concentración de metales encontrados en el suelo de mina (Cuadro 3), durante los primeros días se adicionó a todos los tratamientos excepto a los testigos una solución de metales pesados, esta solución se desarrolló a partir de una solución patrón comercial Hycl, considerando los valores normales y críticos en plantas de acuerdo a Kabata-Pendias & Pendias (1984) quedando de la siguiente manera:

Cuadro 3. Metales pesados: rango normal, concentraciones críticas en plantas y concentraciones empleadas en la investigación.

Elemento	Concentración en suelo original (mg/kg)	Concentración empleada (mg/kg)	Rango Normal en plantas (mg/kg)	Concentración crítica en plantas (mg/kg)	
			a	[1]	[2]
Cd	3.46	3.5	0.1 – 2.4	5-30	4 – 200
Pb	57.19	30	0.2 - 20	30 – 300	-----
Zn	59.63	100	1 - 400	100 – 400	100-900

Bowen, 1979^[a]; Kabata-Pendias & Pendias^[1], 1984; McNichol^[2], 1985

7.6. Medición y variables.

A partir del trasplante y durante 16 semanas de tratamiento se llevó un registro del desarrollo y crecimiento de los individuos considerando: altura, cobertura, número de hojas y floración, de igual forma se llevó un registro de las variables que se presentaron como fueron el cambio de coloración y el ataque de plagas.

7.6.1. Plagas

Las plagas que aparecieron fueron: mosca blanca y pulgón, se controlaron con bioplaguicida a base de ajo y cebolla y una infusión de cola de caballo.

7.7. Cosecha.

Una vez concluido el tiempo de cultivo (10 semanas *Cosmos bipinnatus* y 16 semanas *Dahlia*) se extrajeron las plantas de los diferentes tratamientos. El tejido vegetal fue separado en raíz y parte aérea, la raíz se enjuagó al igual que la parte aérea con agua desionizada, con el objetivo de eliminar el exceso de suelo y los metales acumulados de manera extracelular, se midió la raíz, tallo y flor; posteriormente los órganos de la planta se deshidrataron a 50°C, hasta peso constante.

7.8. Digestión

Para determinar la acumulación de Cd, Pb y Zn en tejido vegetal (parte aérea y raíz) se peso 0.1 g (base seca) de parte aérea y raíces, por separado, para hacer la digestión triácida (Radojevic & Bashkin, 1999) se analizó la concentración de metales pesados, en base a un análisis de espectrofotometría de absorción atómica, con el equipo Spectraa 200 marca Varian.

El suelo obtenido después de la cosecha, se puso a secar y por medio del método agua regia (Radojevic & Bashkin, 1999) se determinó la concentración de metales pesados totales (Figura 8) las muestras se leyeron por medio de absorción atómica con el equipo Spectraa 200 marca Varian.



Figura 8.
Digestión digestión triácida (Radojevic y Bashkin, 1999)

7.9. Estimación de índices y coeficientes

7.9.1. Índice de tolerancia

El índice de tolerancia (IT), es una medida de las adaptaciones que tienen algunas especies que crecen en suelos contaminados con metales.

$$IT = (\text{longitud de la raíz con metal} / \text{Longitud de raíz sin metal}) \times 100$$

7.9.2. Factor de translocación.

Indica la capacidad de la planta para traslocar los metales a la parte aérea. Para estimar este factor, se dividió la concentración de metales en la parte aérea entre la concentración encontrada en la raíz (Incorvia, Lannucci, Musante & Jason, 2003)

Factor de translocación (FT) = [Metal] en la parte aérea / [Metal] en raíces

7.10 Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados en el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11, utilizando en método de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD).

7.11. Determinación de parámetros físicos y químicos.

Para los análisis físicos y químicos, se tomaron muestras de suelo por tratamiento, estas fueron homogenizadas, secadas, tamizadas, pesadas y almacenadas de acuerdo con la NOM-021-RENAT-2000 (Cuadro 4). Se analizaron 3 repeticiones por muestra compuesta y posteriormente se reportó en los resultados el promedio de cada análisis.

Cuadro 4. Método por el cual se evaluaron los parámetros físicos y químicos.

Parámetro	Método
Ph	Método As – 02(NOM-021-RECNAT-2000)
Densidad Aparente	Método de la probeta (Ríos, 1990)
Densidad Real	Método del Picnómetro (Ríos, 1990)
Materia Orgánica	Método As-07(NOM-021-RENAT-2000)
Conductividad Eléctrica	Método del Conductímetro (Ríos, 1990)
C.I.C	Método As-012(NOM-021-RENAT-2000)
Cuantificación de metales pesados en estructuras vegetales	Digestión triácida (Ácido Perclórico, Ácido Nítrico y Ácido Sulfúrico)(Radojevic& Bashkin,1999)
Cuantificación de Metales Pesados en suelo	Técnica de agua regia (Radojevic& Bashkin,1999)
Determinación de metales disponibles	Método AS-14 Técnica de DTPA .005M (NOM-021-SEMARNAT-2000)
Nitrógeno Inorgánico	Método AS - 08 (NOM-021-RECNAT-2000)
Fosforo extraíble en suelos de neutros a alcalinos	Método AS – 10 (NOM-021-RECNAT-2000)
Determinación de cationes solubles (Ca, Mg, Na, K)	Método AS – 19 (NOM-021-RECNAT-2000)

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 5. Parámetros físico - químicos del suelo.

Clave	Tratamiento	pH	C.E Mmhos/ cm	D.A g/cc	D.R g/cc	M.O %	N %	P Mg Kg ⁻¹	Ca Cmol (+) kg ⁻¹	Mg Cmol (+) kg ⁻¹	Na Cmol (+) kg ⁻¹	K Cmol (+) kg ⁻¹
TD	Testigo <i>Dahlia</i>	8.4	0.30	1.56	2.51	1.1	0.05	9.75	23.78	3.52	2.41	1.14
20D	20% <i>Dahlia</i>	8.4	0.24	1.46	2.14	2.9	0.146	3.00	15.56	1.71	1.16	0.29
40D	40% <i>Dahlia</i>	8.3	0.28	1.41	1.99	1.7	0.083	2.25	8.74	1.62	0.63	0.48
60D	60% <i>Dahlia</i>	8.1	0.48	1.24	1.41	0.9	0.045	3.00	27.35	9.07	1.22	0.78
80D	80% <i>Dahlia</i>	8.0	0.39	1.13	2.69	1.7	0.087	6.75	63.08	16.38	1.33	2.04
100D	100% <i>Dahlia</i>	7.5	0.20	1.14	2.51	4.4	0.222	18.7	36.15	9.60	0.89	0.98
TC	Testigo <i>Cosmos</i>	7.1	0.34	1.51	2.25	0.3	0.014	9.00	31.57	5.89	1.25	1.72
CS	<i>Cosmos</i> sin metal	7.3	0.29	1.32	2.22	1.7	0.087	6.75	20.09	4.18	0.54	0.86
20C	20% <i>Cosmos</i>	7.4	0.37	1.34	2.66	1.2	0.061	18.7 5	21.56	7.88	2.04	3.75
40C	40% <i>Cosmos</i>	7.3	0.39	1.23	2.02	2.5	0.123	11.2 5	22.96	9.23	1.15	2.30
60C	60% <i>Cosmos</i>	6.9	0.39	1.19	2.24	2.5	0.123	10.5 0	18.60	9.07	0.31	0.67
80C	80% <i>Cosmos</i>	7.0	0.3	1.17	2.79	1.8	0.090	6.00	25.43	6.60	0.64	1.36
100C	100% <i>Cosmos</i>	6.8	0.20	1.18	2.41	0.5	0.024	3.75	22.83	3.90	0.36	1.00

8.1. Parámetros físico químicos

Los resultados de los parámetros físicos y químicos evaluados se observan en el Cuadro 5; el pH es uno de los parámetros más importantes para definir la movilidad del catión, su determinación es muy importante dado que afecta la solubilidad y disponibilidad de nutrientes y metales pesados (Hernández, 2009). De acuerdo a Duran (2010) los iones tienen más movilidad en los rangos menores de pH, sin embargo en medios alcalinos como es el caso de los tratamientos de *Dahlia* y *Cosmos bipinnatus* 20% que presentaron un pH medianamente alcalino (7.4 - 8.5) pueden pasar nuevamente a la solución como hidroxicomplejos. El suelo de *Cosmos bipinnatus* presentó un pH neutro (6.8 – 7.3), de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000.

La Conductividad Eléctrica (CE) se suele utilizar como índice de salinidad, en una solución, es proporcional al contenido de sales disueltas e ionizadas contenidas en esa solución, esta presenta efectos despreciables de salinidad en todos los tratamientos (Cuadro 5) de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000. El suelo, como todo cuerpo poroso, tiene dos densidades: la real (densidad media de partículas sólidas) y la aparente, que constituye un criterio útil para evaluar la profundidad a la que penetran las raíces y la facilidad de circulación de agua y aire en la zona radicular (Ríos, 1985; Hernández, 2009) la densidad aparente (Cuadro 5) se encuentra entre 1.13–1.56 g/cc. Ríos (1985) indica que los suelos cultivados de textura

migajonosa tienen una densidad aparente de 1.3 g/cc, en esta categoría encontramos a los tratamientos siguientes: *Dahlia* 60% y *Cosmos bipinnatus* sin metal (CS), 20% y 40%. Cuando el drenaje y la aireación son lentos el valor de la Densidad Aparente oscila entre 1.5-1.6 g/cc los testigos de ambas especies tienen esta característica, misma que implica que existe cierto grado de compactación en el suelo, obstaculizando el crecimiento radicular. Existe una relación entre la Densidad Aparente y Espacio Poroso, el cual consiste en que a menor porcentaje de espacio poroso, menor retención de humedad, drenaje más lento y menor aireación, *Dahlia* Testigo 20%, 40% y *Cosmos bipinnatus* testigo tienen una densidad aparente de 1.4-1.6 g/cc, por lo tanto su espacio poroso es de 40% - 45%, es decir que tiene menor retención de humedad y drenaje más lento. La densidad aparente de *Dahlia* 60% y *Cosmos bipinnatus* sin metal (CS), 20%, 40% es de 1.2 - 1.4 g/cc y tienen un espacio poroso de 45% - 54%.

La densidad aparente de *Dahlia* 80%, 100% y *Cosmos bipinnatus* 60%, 80% y 100% es de 1.13-1.19 y tiene un (55%-62%), de espacio poroso, por lo tanto son tratamientos con mayor retención de humedad y mayor aireación. En conclusión, a mayor cantidad de suelo de mina, mayor será la retención de humedad y habrá mayor aireación. La densidad real se encuentra entre (1.41–2.79 g/cc).

El porcentaje de materia orgánica es importante en todos los procesos de adsorción del suelo, dado que actúa como ligandos en los complejos de intercambio (Duran, 2010) en base a la NOM-021-RECNAT-2000, los tratamientos de *Cosmos bipinnatus* Testigo y 100% están considerados con muy baja materia orgánica (0.3-0.5%), *Dahlia* testigo, 60% y *Cosmos bipinnatus* 20% tienen baja materia orgánica (0.9-1.2%), *Dahlia* 20%, 40%, 80% y *Cosmos bipinnatus* sin metal (CS), 40%, 60%, 80% su materia orgánica es media (1.7-2.9%), solo *Dahlia* 100% muestra un porcentaje alto (4.4%) de M.O.

La cantidad de Nitrógeno (Cuadro 5) para *Cosmos bipinnatus* Testigo y 100% fue de (0.014- 0.024%), se encuentra en la categoría de extremadamente pobre, en la categoría de pobre encontramos a *Dahlia* testigo, 60% y a *Cosmos bipinnatus* 20% con (0.045-0.061%), seguido por la categoría medianamente pobre encontramos a *Dahlia* 40%, 80% y *Cosmos bipinnatus* CS, y 80% (0.083-0.090%), los tratamientos de *Cosmos bipinnatus* 40% y 60% están en un nivel medio (0.123%), *Dahlia* 20% (0.146%) se considera medianamente rico y *Dahlia* 100% es extremadamente rico (0.222%) NOM-021-RECNAT-2000.

El fósforo se determinó de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, que indica que los valores encontrados en los tratamientos de *Dahlia* 20%, 40%, 60% y *Cosmos bipinnatus* 100% son bajos (2.25-3.75%), mientras que para *Dahlia* testigo, 80% y *Cosmos bipinnatus* testigo, CS, 60%, 80% es medio (6.0-10.50%), *Dahlia* 100% y *Cosmos bipinnatus* 20% y 40% el porcentaje de fosforo es alto (11.25-18.75%).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es la suma de todos los cationes intercambiables (Ca^{2+} , $\text{Mg}^{2+}\text{Na}^+$ Y Al^{3+}) que el suelo puede absorber a pH determinados, (Hernández 2009). De acuerdo a Duran (2010), Cuanto mayor sea la CIC, mayor será la capacidad del suelo de fijar metales; en el Cuadro 5 se observa que la cantidad de Ca es alta (8.74-63.08 $\text{Cmol}(+)\text{kg}^{-1}$) en todos los tratamientos, de Mg (3.52 – 16.38 $\text{Cmol}(+)\text{kg}^{-1}$) y K (0.29 – 3.75 $\text{Cmol}(+)\text{kg}^{-1}$) se registraron valores altos a excepción de los tratamientos de 20 y 40% con concentración media de Mg (162-1.71 $\text{Cmol}(+)\text{kg}^{-1}$) y K (0.29-0.48 $\text{Cmol}(+)\text{kg}^{-1}$). La mayoría de los metales se comportan como cationes y son adsorbidos en materiales con carga negativa, siendo este el principal mecanismo de retención de metales como Cd, Pb y Zn (Hernández, 2009)

8.2. Supervivencia de *Cosmos bipinnatus*.

La supervivencia de *Cosmos bipinnatus* (Figura 9) fue muy variable, se observó que *Cosmos bipinnatus* 60 y 100% tuvieron el mayor porcentaje de supervivencia, terminando el experimento con 100 y 83% respectivamente, en los demás tratamientos esta fue menor, manteniéndose entre 67 y 50 %, *Cosmos bipinnatus* 80% finalizó el experimento con 50% de supervivencia y *Cosmos bipinnatus* testigo, 20 y 40% solo con el 33% de supervivencia.

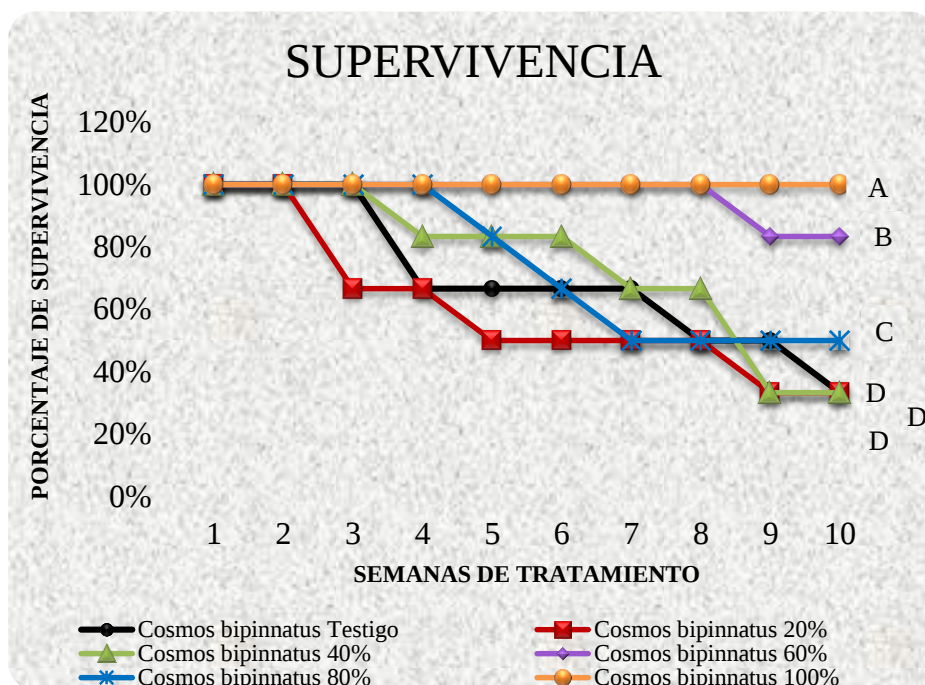


Figura 9. Porcentaje de supervivencia de *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.3. Altura de *Cosmos bipinnatus*

Los individuos fueron trasplantados con una altura promedio de 6.5-13.8cm (Figura 10) su crecimiento fue lineal, sin embargo ningún tratamiento alcanza la altura esperada, ya que de acuerdo a Rodríguez *et al.* (2006), *Cosmos bipinnatus* suele tener altura de 60 a 200cm. Durante las 10 semanas que duro el experimento, *Cosmos bipinnatus* 20% fue el tratamiento con mayor altura (39.8cm) esto se debe, a que inicio el tratamiento con 13.8cm. *Cosmos bipinnatus* 40% terminó el tratamiento con 34.9cm, fue el segundo tratamiento de mayor altura, *Cosmos bipinnatus* 60%, 80% y 100% llegaron a la semana 10 con 25.7cm, *Cosmos bipinnatus* testigo en la semana 9 bajó su altura terminando el experimento con 20.5cm siendo el tratamiento con menor altura.

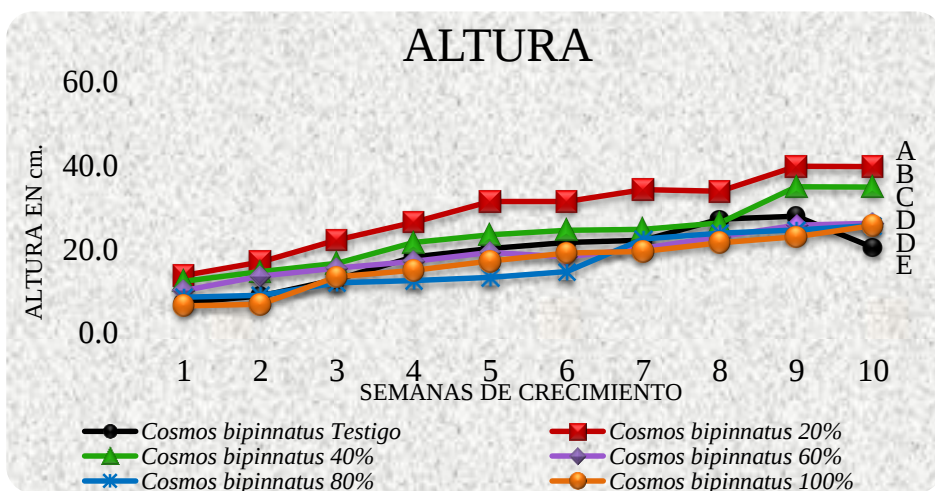


Figura 10. Altura de *Cosmos bipinnatus* durante el tratamiento. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.4. Número de hojas de *Cosmos bipinnatus*

Al inicio del experimento los tratamientos mostraban entre 6 - 9 hojas (Figura 11), a partir de la semana 4, las hojas de *Cosmos bipinnatus*, 20%, 40%, 60%, y 100% se empiezan a secar provocando que disminuya la cantidad de hojas (Figura 12), en las siguientes semanas se reponen, *Cosmos bipinnatus* 80% a partir de la semana 5 ascendió significativamente hasta llegar a la semana 8 con 16 hojas convirtiéndose en el tratamiento con mayor cantidad de hojas, y al final solo con 14 hojas, para la semana 10 *Cosmos bipinnatus* testigo, 20%, 60% y 100% concluyeron con 12 hojas, cosmos 40% fue el que menos hojas tuvo (10 hojas).

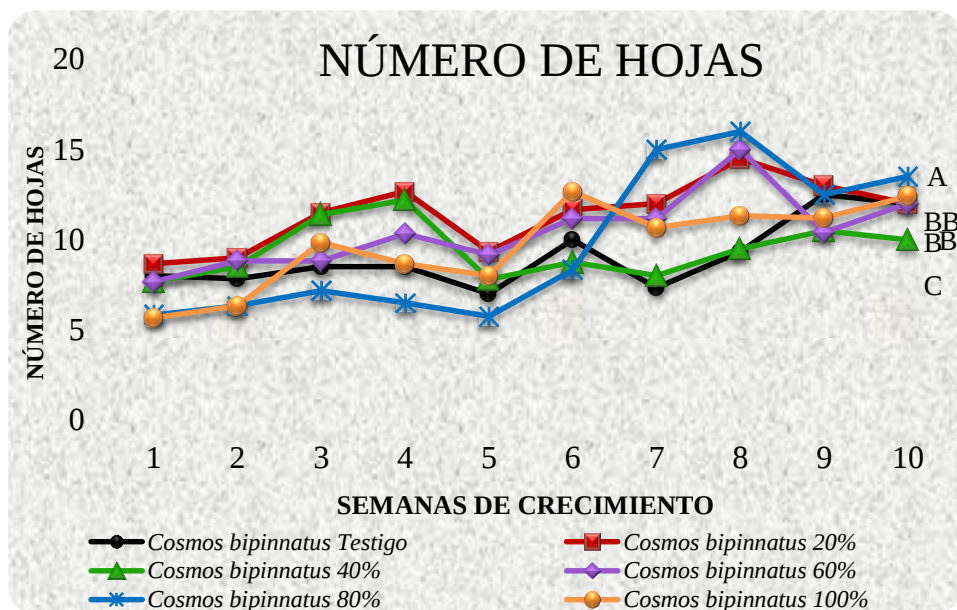


Figura 11. Número de hojas *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.



El crecimiento y número de hojas se vio afectado por el ataque de plagas tales como hongos, mosca blanca y pulgón, estas fueron controladas con bioplagicidas a base de ajo y cebolla y una infusión de cola de caballo.

Figura 12.
Se observa que las hojas de la parte inferior de *Cosmos bipinnatus* están secas.

Llegaron a la etapa de floración dos individuos de tratamientos diferentes, *Cosmos bipinnatus* 100%, el diámetro de la flor fue de 3.0 x2.0 cm, color rosa, 5 pétalos (Figura 13) *Cosmos bipinnatus* 80%, dio dos flores de 2.5x2.0cm de color morado, con 7 y 5 pétalos (Figura 14)



Figura 13. Flor de *Cosmos bipinnatus* 100%



Figura 14. Flor de *Cosmos bipinnatus* 80%

8.5. Cobertura de *Cosmos bipinnatus*.

La cobertura (Figura 15) esta relaciona con el tipo de hoja que tiene cada especie, las hojas de cosmos son alternas y están divididas en varios segmentos muy angostos, casi tan delgados como un hilo (Soto & German, 2010), *Cosmos bipinnatus* testigo, 20,40, 60% tuvieron coberturas muy semejantes de 21 a 21.7cm² el tratamiento con mayor cobertura fue *Cosmos bipinnatus* 100% alcanzado 25cm², cosmos 80% fue el tratamiento de menor cobertura con 16.2cm².

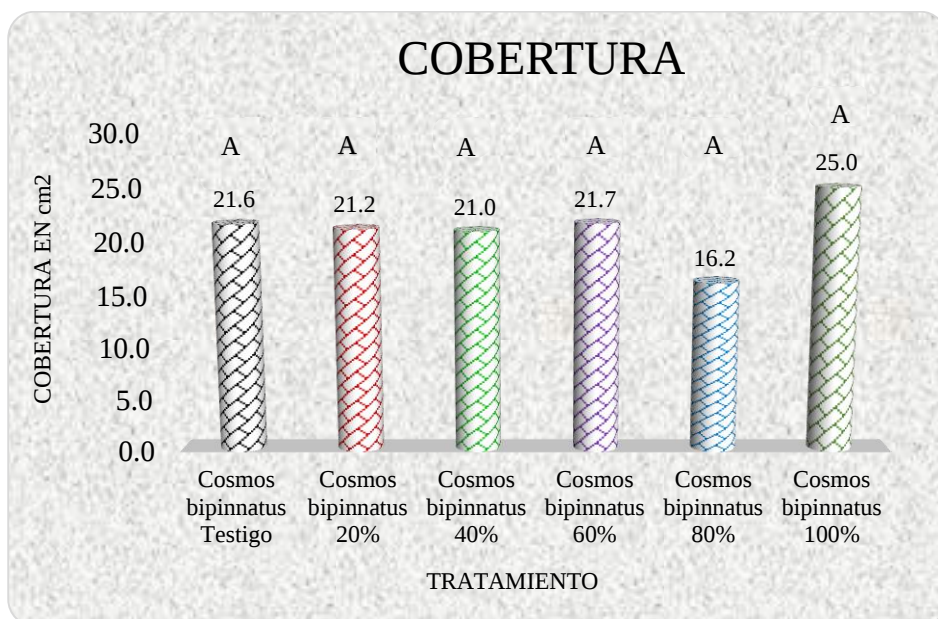


Figura 15. Cobertura de hojas *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.6. Supervivencia de *Dahlia*.

La supervivencia (Figura 16) se mantiene en 100% para los tratamientos de *Dahlia* (40, 80 y 100%) y en 80 % para *Dahlia* (testigo, 20 y 60%), a partir de la semana 13 existe un descenso en todos los tratamientos, *Dahlia* 60% termino con 50% de supervivencia, *Dahlia* 100%, 80% y 20%, llegaron a la semana 16 con 33% de individuos, *Dahlia* testigo solo conto con 16.66% de supervivencia, *Dahlia* 40% termino el tratamiento con 0% de supervivencia.

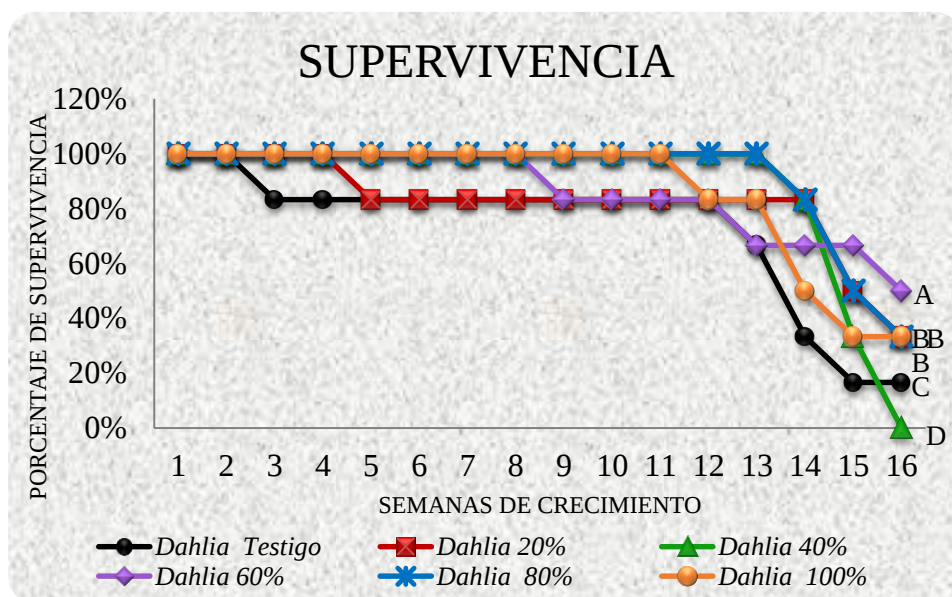


Figura 16.- Porcentaje de sobrevivencia de *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.7. Altura de *Dahlia*

En la figura 18, se observa el comportamiento que tuvo *Dahlia* con respecto a la altura, durante las 16 semanas que duro el experimento. Los individuos fueron trasplantados a los diferentes tratamientos con una altura promedio de 4.3-5.3cm a excepción de *Dahlia* 40 y 60% (6.6-6.9 cm, respectivamente), siendo estos, los que más destacaron, alcanzando 31.5 cm de altura en la semana 13 (Figura 17).



Figura 17. Crecimiento de *Dahlia*.

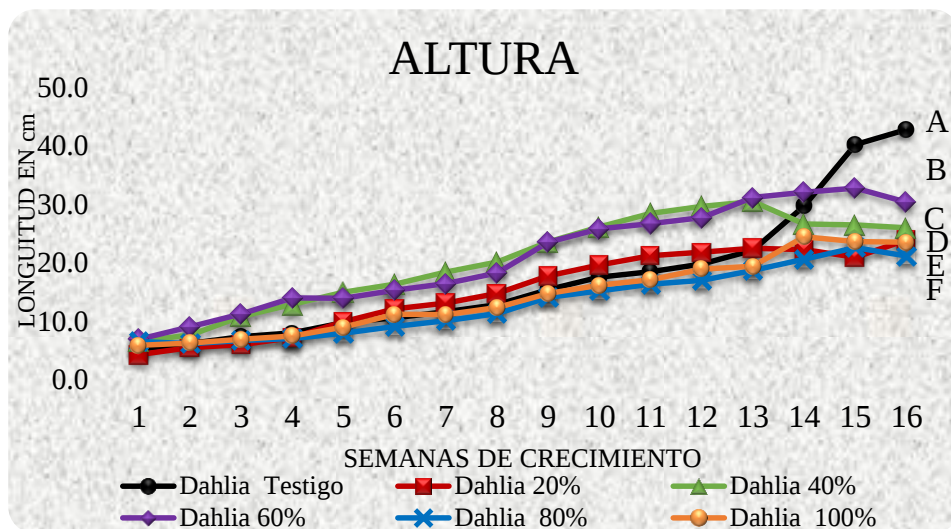


Figura 18.- Altura de *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

Los demás tratamientos tuvieron un crecimiento lineal y constante, hasta llegar a la semana 13 en la cual empieza a disminuir la altura, los tratamientos de *Dahlia* 20%, 40%, 80%, 100% terminaron con altura de entre 21.2 y 26.5 cm (Figura 18), la *Dahlia* puede medir desde 30cm hasta más de 120cm (Castro *et al.*, 2012), los tratamientos que finalizaron el experimento con mayor altura fue *Dahlia* 60% con 30.3 cm y *Dahlia* testigo 42.8cm.

8.8. Número de hojas de *Dahlia*

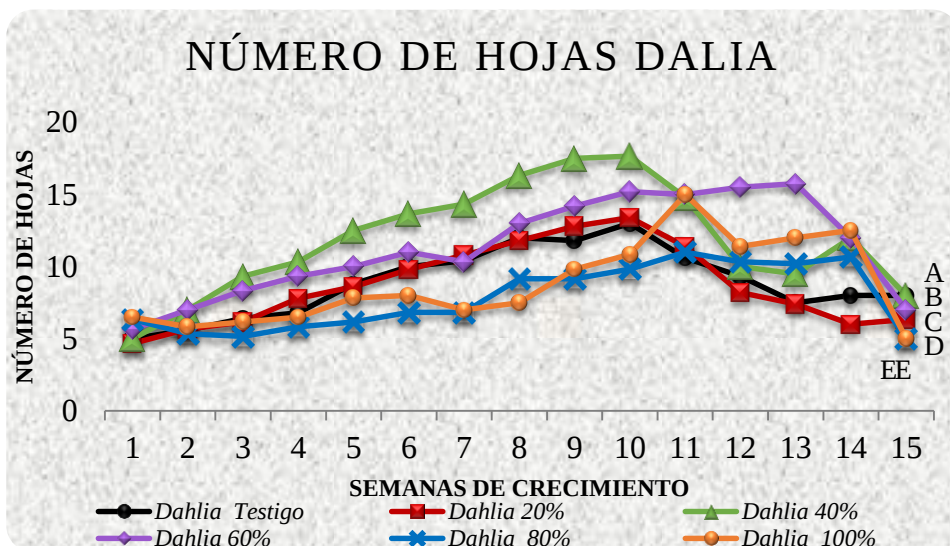


Figura 19.- Número de *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

Al inicio del tratamiento los individuos presentaron un promedio de 5-7 hojas (Figura 19), el cual aumenta aproximadamente 2 hojas por semana, destaca *Dahlia* 40% ya que fue el tratamiento con mayor cantidad de hojas en la semana 10 (18 hojas), sin embargo todos los tratamientos, se vieron afectados por un hongo (Figura 20), el cual se aprecia como manchas blancas en las hojas, provocando deformaciones y pérdida de estas, es por ello que a partir de la semana 11 hay un descenso de hojas terminando el experimento con un promedio de entre 5 y 9 hojas (Figura 18).



Figura 20. Hoja de *Dahlia* con hongo.

8.9. Cobertura de *Dahlia*

En las 16 semanas que duro el experimento se observa que el tratamiento con mayor cobertura (Figura 21) fue *Dahlia* 40% (168.54 cm²), seguido por *Dahlia* testigo con una cobertura promedio de 124cm², *Dahlia* 60% alcanzo 93.0 cm², en *Dahlia* 20 y 100% la cobertura fue de 69.64cm² y 53.04cm² respectivamente, *Dahlia* 80% fue el tratamiento de menor cobertura (13.4cm²).

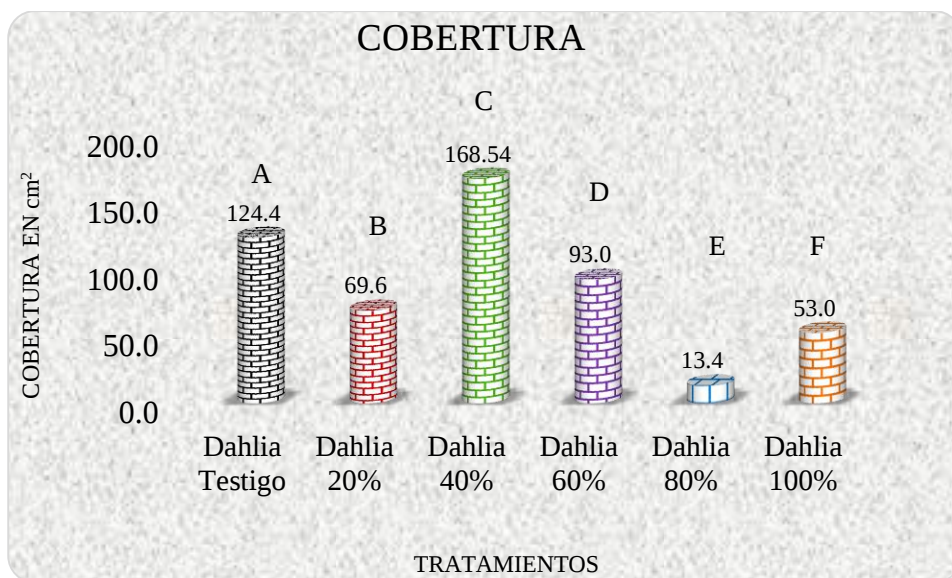


Figura 21.-Cobertura de *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.10. Metales pesados en el suelo.

La concentración de metales que quedaron retenidos en el suelo (Cuadro 6) de las especies *Dahlia* y *Cosmos bipinnatus*, están dentro del rango normal para Pb y Zn de acuerdo a Bowen (1979) el cadmio estuvo presente en concentraciones críticas en todos los tratamientos de las dos especies, destacando principalmente *Dahlia* 40, 60, 80 y 100% con valores que van de 5.65 a 6.22 mg/kg y *Cosmos bipinnatus* 40, 80 y 100% con concentraciones de 5.13, 5.07 y 5.45 mg/kg respectivamente.

Cuadro 6. Concentración de metales pesados en el suelo mg/kg de suelo.

Tratamiento	Clave	Metales pesados		
		Cd (mg/ kg)	Pb (mg/ kg)	Zn (mg/ kg)
<i>Cosmos bipinnatus</i> testigo	CT	*3.07	7.50	34.66
<i>Cosmos bipinnatus</i> sin metal	20CS	*3.92	22.17	43.72
<i>Cosmos bipinnatus</i> sin metal 40%	40CS	*4.80	17.67	45.85
<i>Cosmos bipinnatus</i> sin metal 80%	80CS	*4.93	29.67	49.30
<i>Cosmos bipinnatus</i> 20%	20C	*4.72	20.50	39.61
<i>Cosmos bipinnatus</i> 40%	40C	*5.13	35.67	50.08
<i>Cosmos bipinnatus</i> 60%	60C	*4.78	43.00	45.58
<i>Cosmos bipinnatus</i> 80%	80C	*5.07	34.00	36.86
<i>Cosmos bipinnatus</i> 100%	100C	*5.45	57.33	41.29
<i>Dahlia</i> Testigo	TD	*4.67	48.67	22.92
<i>Dahlia</i> 20%	20D	*4.68	52.00	23.40
<i>Dahlia</i> 40%	40D	*5.83	61.33	44.45
<i>Dahlia</i> 60%	60D	*5.97	75.33	31.18
<i>Dahlia</i> 80%	80D	*6.22	66.33	60.15
<i>Dahlia</i> 100%	100D	*5.65	60.83	39.36
Rango normal en suelo		0.1 – 2.0	2-300	1 -900
Concentración crítica en suelo (mg/kg)		3-8	100– 400	70 – 400
*		Concentraciones críticas		

Bowen, 1979^[a], Kabata- Pendias&Pendias^[1], 1984

8.11. Metales pesados en las estructuras de *Cosmos bipinnatus*.

Cuadro 7. Concentración de Metales pesados en las diferentes estructuras de la planta. mg/kg.

Tratamiento	Clave	Metales pesados		
		Cd (mg/ kg)	Pb (mg/ kg)	Zn (mg/ kg)
<i>Cosmos bipinnatus</i> testigo	CT	*49.18	*510.00	*122.84
<i>Cosmos bipinnatus</i> sin metal	CS	*7.94	*87.22	19.66
<i>Cosmos bipinnatus</i> 20%	20 C	*55.00	*619.23	61.28
<i>Cosmos bipinnatus</i> 40%	40 C	*69.50	*700.00	*102.90
<i>Cosmos bipinnatus</i> 60%	60 C	*59.54	*740.91	93.47
<i>Cosmos bipinnatus</i> 80%	80 C	*61.59	*813.64	79.95
<i>Cosmos bipinnatus</i> 100%	100 C	*57.63	*737.50	70.43
Rango normal en plantas	[a]	0.1 – 2.4	0.2 - 20	1 - 400
Concentración critica en plantas (mg/kg)	[1]	5-30	30 – 300	100 – 400
	[2]	4 – 200	-----	100 – 900
*		Concentraciones criticas		

Bowen, 1979 ^[a]; Kabata –Pendias & Pendias^[1], 1984; Mc Nichol^[2], 1985.

Rodríguez *et al.*, (2009) evaluó el comportamiento de *Cosmos bipinnatus* en la primera etapa de su crecimiento (17 días), y comprobó que puede absorber concentraciones elevadas de Cd, Pb, Zn, sin embargo los metales provocan daños en las hojas, pero aun así pueden continuar con su desarrollo.

En este estudio se observa que las concentraciones de Zn en los tratamientos testigo y 40% son críticas al igual que de Cd y Pb en todos los tratamientos (Cuadro 7), esto indica que la planta se mantuvo en un estrés constante por lo que se vio afectado su crecimiento y cobertura además de ser más susceptible al ataque de la plagas mosca blanca, pulgón (Figura 22).



Figura 22.
Hoja de *Cosmos bipinnatus*.

8.11.1. Cadmio en *Cosmos bipinnatus*.

Para que la concentración de cadmio sea considerada crítica su valor debe ser superior a 5 mg/kg (Baker, Reves & Hajar, 1979) en los diferentes tratamientos encontramos valores de 7.94 mg/kg para *Cosmos bipinnatus* sin metal (SC) hasta 69.50 mg/kg para *Cosmos bipinnatus* 40% (Cuadro 7, Figura 23) Mengel & Kirby (1982) mencionan que el movimiento del cadmio en la planta es parecido al del calcio. *Cosmos bipinnatus* sustituyo al Ca por el Cd, reflejando concentraciones críticas en las plantas de todos los tratamientos y altas concentraciones de Ca en el suelo. En los tratamientos de 40% y 80% se presentó enrollamiento de las hojas, provocando la disminución de la cobertura (figura 22 y 15,), esto se debe a las concentraciones críticas de Cd (Toppi & Gabbrielli, 1995; Prasad, 1995) el Cd al igual el plomo reduce el crecimiento de las raíces y tallos.

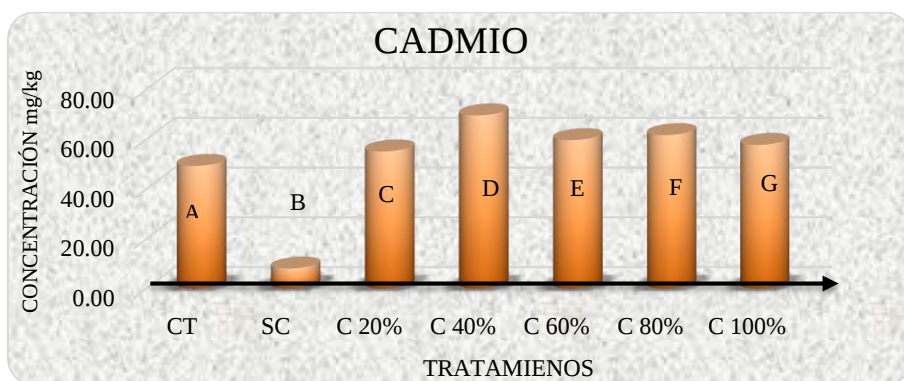


Figura 23. Concentración de cadmio en *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza. (CT) *Cosmos bipinnatus* testigo, (CS). *Cosmos bipinnatus* sin metales.

8.11.2 Plomo en *Cosmos bipinnatus*.

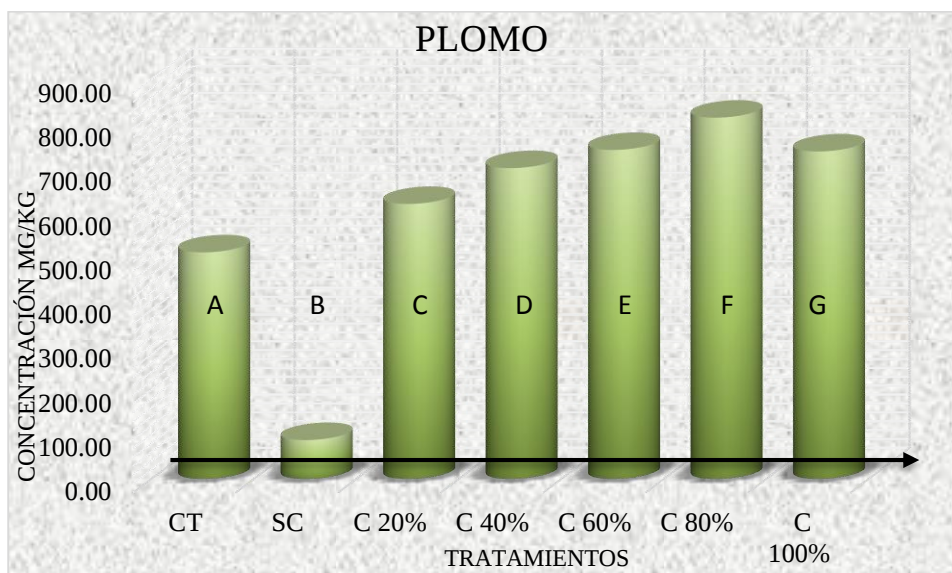


Figura 24. Concentración de plomo en *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

(CT) *Cosmos bipinnatus* testigo, (SC). *Cosmos bipinnatus* sin metales.

El metal que se encontró en mayor concentración en la planta fue el plomo, este elemento se presenta en concentraciones críticas (Baker *et al.*, 1979) en todos los tratamientos (Cuadro 7), encontrándose valores que van de 87.22 mg/kg para *Cosmos bipinnatus* sin metal (SC) hasta 813.64 mg/kg en *Cosmos bipinnatus* 80% (Figura 24).

El desarrollo de *Cosmos bipinnatus* se vio afectado debido a las altas concentraciones de plomo, la supervivencia de cosmos fue muy variable (Figura 9) su altura final (20.5-39.8- cm) no fue la esperada ya que *Cosmos bipinnatus* suele tener altura de 60 a 200 cm. Rodríguez *et al.* (2006).



Figura 25. Brotes de *Cosmos bipinnatus*.

Esto se debe a que el plomo produce trastornos fisiológicos (Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez & Villegas, 2011) retrasa el crecimiento de la planta, e inhibe la germinación de las semillas (Sharma & Shanker, 2005). Las concentraciones registradas de plomo en los tratamientos de 60, 80 y 100% fueron las más altas (737.50-813 mg/kg) a pesar de ello fueron los únicos tratamientos que presentaron brotes (Figura 25) en algunos individuos (1, 2 y 4 respectivamente) sin embargo solo un individuo de los tratamientos 80 y 100% llegó a producir flores (Figura 13 y 14). Las asteráceas toleran niveles altos de algunos metales ejemplo de ello es *Sonchus oleraceus* con alta asimilación de plomo (Palacios-Sánchez 2006), que al igual que cosmos se propone como una especie fitorremediadora de ambientes contaminados por plomo.

8.11.3 Zinc en *Cosmos bipinnatus*

Las concentraciones de Zinc son altas, pero están dentro del rango normal, a excepción de tratamiento de *Cosmos bipinnatus* testigo (122.84 mg/kg) y 40% (102.90 mg/kg) (Baker *et al.*, 1974) (Figura 26).

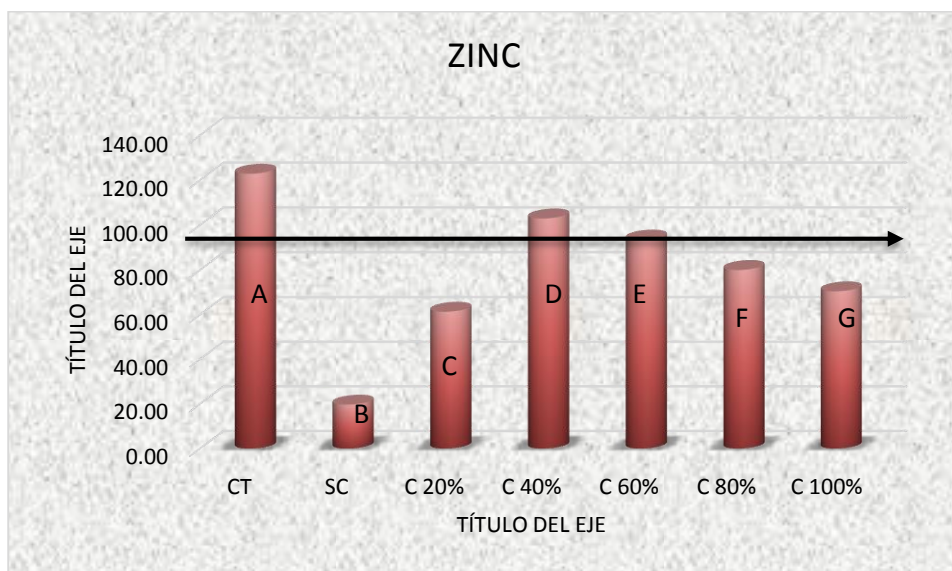


Figura 26. Concentración de Zinc en *Cosmos bipinnatus*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

(CT) *Cosmos bipinnatus* testigo, (CS). *Cosmos bipinnatus* sin metales.

8.12. Metales pesados en las estructuras de *Dahlia*.

De acuerdo a Duran (2010) el pH (Cuadro 5) es medianamente alcalino (7.5-8.4) lo cual indica que la disponibilidad de Cd es media, Pb baja, y Zn muy baja. Las concentraciones obtenidas en cuanto a la absorción de Cd y Zn, fueron críticas en todos los tratamientos a excepción del Zn en el que solo algunos tratamientos y determinadas estructuras lograron absorber concentraciones críticas, Han *et al.*, (2003) propone a *Helianthus annuus* L como especie ornamental fitorremediadora dado que puede transportar fácilmente Pb, Cd y Zn desde la raíz hasta la parte aérea, al igual que *Dahlia*.

8.12.1. Cadmio en *Dahlia*.

En general, se ha demostrado que el Cd interfiere con la absorción, transporte y uso de varios elementos como son Ca, Mg, P y K (Das *et al.*, 1997).

Cuadro 8. Cadmio en la estructura de *Dahlia*

CADMIO	Raíz (mg/ kg)	Tallo(mg / kg)	Hoja (mg/ kg)
<i>Dahlia</i> Testigo	*43.13	*71.67	*24.17
<i>Dahlia</i> 20%	*48.67	*72.33	*69.50
<i>Dahlia</i> 40%	*36.92	*25.28	*15.40
<i>Dahlia</i> 60%	*44.78	*47.44	*28.33
<i>Dahlia</i> 80%	*41.39	*75.33	*41.50
<i>Dahlia</i> 100%	*61.25	*74.25	*75.83
Rango normal en plantas [a]		0.1 – 2.4	
Concentración crítica en plantas (mg/kg)			
[1]		5-30	
[2]		4 – 200	
*		Concentraciones críticas	

Bowen, 1979^[a]; Kabata- Pendias&Pendias^[1], 1984; McNichol^[2], 1985 .

El Cadmio (Cuadro 8) lo encontramos en concentraciones críticas en todos los tratamientos y en las tres estructuras de *Dahlia*, el tratamiento con mayor concentración en la raíz es *Dahlia* 100% (61.25mg/kg) y en menor concentración, *Dahlia* 40% (36.92 mg/kg). *Dahlia* 80% (75.33 mg/kg) es el tratamiento con mayor absorción de cadmio en el tallo y en menor proporción *Dahlia* 40% (25.28 mg/kg).

En las concentraciones de las hojas, *Dahlia* 100% (75.83 mg/kg) fue superior a los demás tratamientos y de nueva cuenta *Dahlia* 40% (15.40 mg/kg) fue el tratamiento con menor cantidad de cadmio. Normalmente, los iones de Cd son retenidos principalmente en las raíces, y sólo pequeñas cantidades se transportan a los brotes (Toppi-Gabrielli 1998), este comportamiento solo se puede observar en *Dahlia* 40% en el cual se reporta menor concentración de Cd en todas las estructuras, en la figura 27, se observa con mayor claridad que en los tratamientos de 20 y 80% el cadmio se acumuló mayoritariamente en; tallo>hojas> raíz en testigo y 60% en tallo>raíz>hoja y en *Dahlia* 100 fue hoja > tallo > raíz.

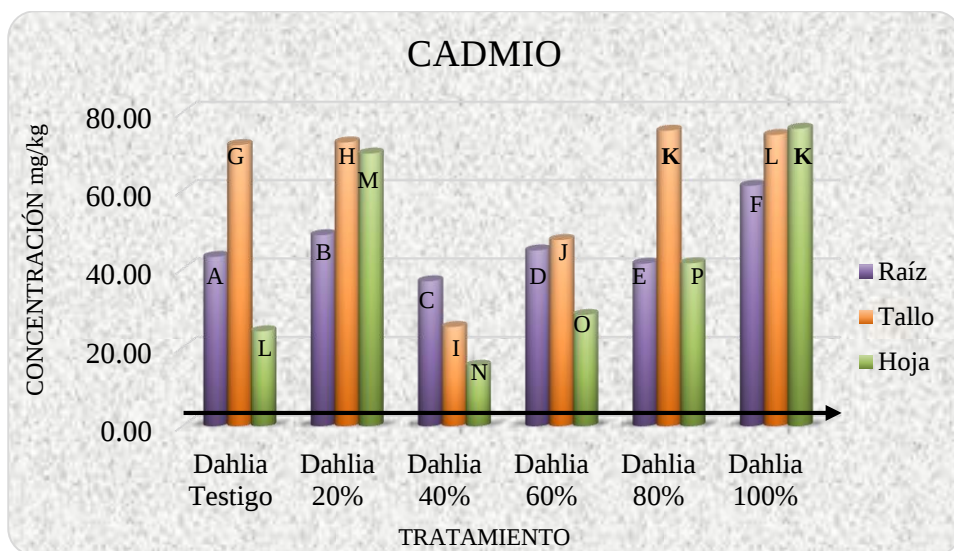


Figura 27. Cadmio en las diferentes estructuras de *Dahlia* (raíz, tallo y hoja). Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.12.2. Plomo en *Dahlia*.

Las concentraciones registradas para la especie de *Dahlia* (Cuadro 9) nos permite observar que el plomo estuvo presente en concentraciones críticas en las tres estructuras de la planta; raíz, tallo y hoja, las concentraciones más altas de plomo en la raíz fue en el tratamiento de 100% con (583.33 mg/kg) y la más baja fue en *Dahlia* 40% (349.17 mg/kg).

Cuadro 9. Plomo en las estructuras de *Dahlia*

PLOMO	Raíz	Tallo	Hoja
<i>Dahlia Testigo</i>	*462.50	*773.33	*266.67
<i>Dahlia</i> 20%	*563.33	*866.67	*773.67
<i>Dahlia</i> 40%	*349.17	*200.00	*164.00
<i>Dahlia</i> 60%	*524.44	*472.22	*256.56
<i>Dahlia</i> 80%	*350.00	*710.00	*374.17
<i>Dahlia</i> 100%	*583.33	*642.50	*778.33
Rango normal en plantas [a]	0.2 – 20		
Concentración crítica en plantas (mg/kg)	30 – 300		
[1]			
[2]	-----		
*	Concentraciones críticas		

Bowen, 1979^[a]; Kabata- Pendias & Pendias^[1], 1984; McNichol^[2], 1985

De acuerdo a Grupta *et al.*, (2013) la movilidad del plomo es relativamente baja en la planta, el plomo tomado por las plantas se limita a las raíces y solo una pequeña cantidad se trasloca a la parte aérea, sin embargo podemos observar (Figura 28) que el tallo fue la estructura que registro mayor concentración de Pb, principalmente en *Dahlia* 20% (866.67 mg/kg) y en menor proporción en *Dahlia* 40% (200.00 mg/kg). En las hojas la concentración más alta fue la de *Dahlia* 100% (778.33 mg/kg) y en menor concentración esta *Dahlia* 40% (164.00 mg/kg).

En figura 28 podemos observar de manera clara que la mayor cantidad de plomo se registra en el siguiente orden tallo>raíz>hoja, reflejando mayor concentración en los tratamientos de los extremos (*Dahlia* testigo, 20%, 80% y 100%), los tratamientos con mayor concentración de plomo fueron *Dahlia* 20% (tallo > hoja> raíz.) y 100% (hoja > tallo> raíz) Salas (2007) afirma que el contenido de plomo en los órganos de una planta decrece en el siguiente orden: raíz > hojas > tallo> inflorescencias > semillas sin embargo este comportamiento solo lo podemos encontrar en *Dahlia* 40 y 60% que fueron los tratamientos que menor concentración de plomo registraron en sus diferentes estructuras.

Xiong (1997) reporta que el comportamiento de *Sonchusoleraceus* al aumentar la concentración de Pb en las plantas, afecta negativamente la cobertura, la longitud del tallo y la biomasa. (Grupta *et al.*, 2013). El plomo se absorbió mayormente en tallo y hojas de *Dahlia*, ocasionando que no llegara a la altura óptima (Castro *et al.*, 2012) en los tratamientos 40,100, 20,80% de igual forma su cobertura fue más baja a excepción de *Dahlia* 40% (figura 18 y 21); en otras plantas como el girasol, se ha obtenido alta producción de biomasa y alta concentración de plomo en tejidos aéreos cuando crece en suelo moderadamente contaminado por Pb indicando al girasol como una planta adecuada para la fitorremediación.

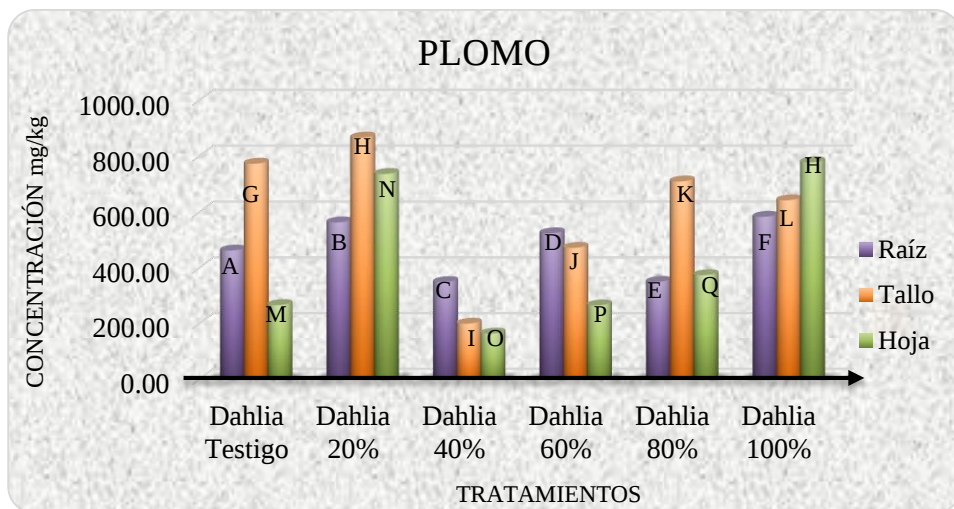


Figura 28. Concentración de Plomo en *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.12.3. Zinc en *Dahlia*

Cuadro 10. Zn en *Dahlia*

ZINC	Raíz	Tallo	Hoja
<i>Dahlia Testigo</i>	34.63	12.83	47.45
<i>Dahlia</i> 20%	52.67	61.70	77.35
<i>Dahlia</i> 40%	*128.02	65.65	82.92
<i>Dahlia</i> 60%	88.72	91.02	*103.25
<i>Dahlia</i> 80%	80.06	92.60	81.70
<i>Dahlia</i> 100%	78.88	*108.00	*134.91
Rango normal en plantas [a]	1 – 400		
Concentración crítica en plantas (mg/kg)	100 – 400		
[1]			
[2]	100 - 900		
*	Concentraciones críticas		

Bowen, 1979^[a]; Kabata-Pendias&Pendias^[1], 1984; McNichol^[2], 1985

El zinc se encontró en concentraciones críticas solo para algunos tratamientos (Cuadro 10, Figura 29), en diferentes estructuras, en la raíz solo el tratamiento de *Dahlia* 40% (128.02 mg/kg) en el tallo *Dahlia* 100% (108.00 mg/kg) y en la hoja *Dahlia* 60% y 100% (103.250 - 134.917 mg/kg). Los síntomas de toxicidad por lo general se hacen visibles en las hojas >300 mg Zn kg⁻¹, los umbrales de toxicidad pueden variar, incluso dentro de la misma especie (Broadley *et al.*, 2006). La familia Asteracea tiende a concentrar elevadas concentraciones de Zn en su estructura ejemplo de ello es *Helianthus annuus* L y *Chromolaena odorata* que pueden crecer en suelos de mina con altas concentraciones de Cd, Pb y Zn ya que puede absorber Zn (41216.5 mg/Kg) y 1.773,3 mg/kg en brotes y 1.494,8 en raíces por lo que se le considera con un alto potencial fitorremediador (Han *et al.*, 2003)

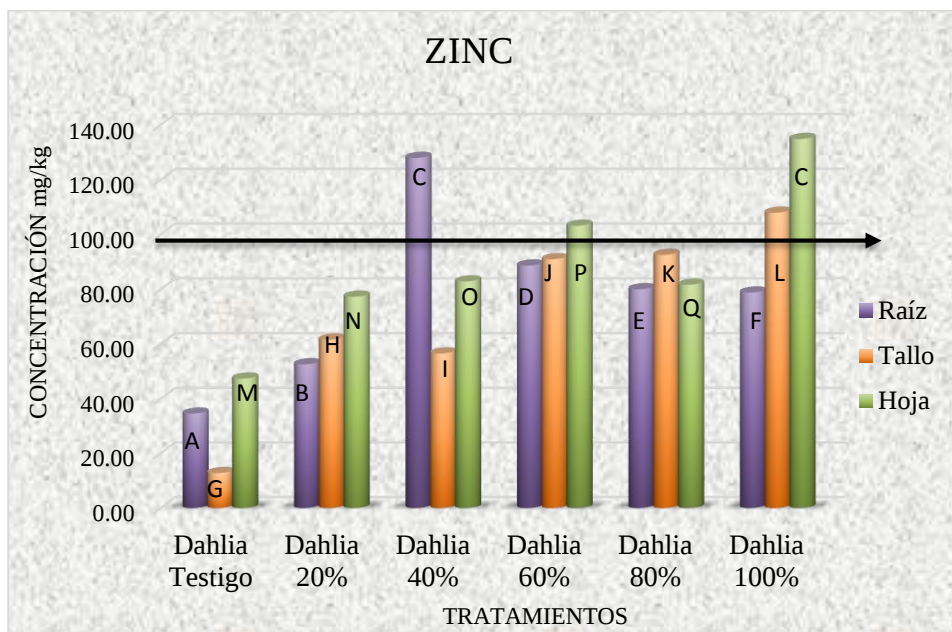


Figura 29. Concentración de Zinc en *Dahlia*. Letras distintas muestran diferencias significativas en base a Fisher (LSD), con un nivel del 95% de confianza.

8.13. Índice de tolerancia

El índice de tolerancia, es una medida de las adaptaciones que tienen algunas especies para crecer en lugares contaminados con metales (Yu, Yan, Zhen, Guo, Xi & Ju, 2007), al analizarlo (Cuadro 11), se observó que los valores de cosmos en testigo, 20 y 40% muestran un rango de tolerancia de 81.76% a 98.37%, los tratamientos con mayor cantidad de suelo de mina: 60, 80 y 100% presentaron mayor porcentaje de tolerancia (101.02, 126.85 y 156.50 % respectivamente, (Figura 30) por lo que se considera que *Cosmos bipinnatus* es tolerante a altas concentraciones de metales pesados.

Cuadro 11. Índice de tolerancia

	Índice de Tolerancia	
	<i>Cosmos bipinnatus</i>	<i>Dahlia</i>
Testigo	87.16	111.07
20%	81.76	122.77
40%	98.37	225.95
60%	126.85	117.65
80%	101.02	111.43
100%	156.50	156.30

Baker *et al* (1994) señala que los mecanismos de tolerancia son en gran parte internos: los metales son absorbidos por plantas crecidas en sustrato metalífero, presentando una serie de adaptaciones fisiológicas y bioquímicas.

En *Dahlia* el índice de tolerancia es mayor ya que en los tratamientos de testigo 20 60 80% su valor fue 111.07-122.77%, (Figura 31) de acuerdo a este índice *Dahlia* 40 y 100% (225.95-156.30% respectivamente) son más resistente a Cd, Pb y Zn.

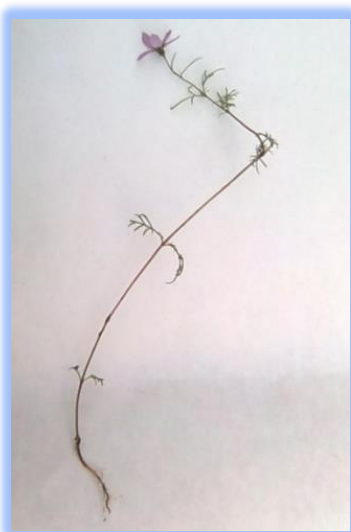


Figura 30. Raíz de *Cosmos bipinnatus* 100%



Figura 31. Raíz de *Dahlia*

8.14. Factor de traslocación.

Para corroborar si existe un transporte del metal hacia las diferentes estructuras de la planta como son tallo y raíz se analizó el factor de traslocación que evalúa la capacidad de una planta para transferir los metales desde la raíz a la parte aérea, Xiu, Dong, Dan & Ping, 2012; Grupta *et al.*, 2013 y Rodríguez *et al.*, (2010) indica que las plantas tienen diferentes respuestas al estrés por efecto de metales pesados; ya que pueden extraerlos, acumularlos o solo indicar su presencia, para considerar que las plantas son tolerantes tienen que tener valores <1 y las hiperacumuladoras >1 .

Cuadro 12. Factor de traslocación en tallo y hoja de *Dahlia*

	FACTOR DE TRASLOCACIÓN TALLO			FACTOR DE TRASLOCACIÓN HOJA		
	Pb	Cd	Zn	Pb	Cd	Zn
Testigo <i>Dahlia</i>	1.67	1.66	0.37	0.58	0.56	1.37
<i>Dahlia</i> 20%	1.54	1.49	1.17	1.31	1.43	1.47
<i>Dahlia</i> 40%	0.57	0.68	0.44	0.47	0.42	0.65
<i>Dahlia</i> 60%	0.90	1.06	1.03	0.51	0.63	1.16
<i>Dahlia</i> 80%	2.03	1.82	1.16	1.07	1.00	1.02
<i>Dahlia</i> 100%	1.10	1.21	1.37	1.33	1.24	1.71

Con base a la Cuadro 12, se puede decir que en todos los tratamientos a excepción del 40% trasladaron el Cd hasta el tallo (1.06-1.82) el Pb en testigo 20, 80 y 100% (1.10-2.03), y el Zn en 20, 60, 80 y 100% (1.03-1.37). Los tratamientos 20,80 y 100% trasladaron el Cd (1.00 – 1.43) y el Pb (1.07-1.33) hasta la hoja, al igual que el Zn (1.02-1.71) en los tratamientos 20, 60, 80, 100%. En el tratamiento de 40% todos los valores son menor a 1 por lo tanto en este tratamiento *Dahlia* solo es acumuladora, al presentarse un bajo factor de traslocación se dice que la planta tiene un alto potencial de fitoestabilización, ya que el enriquecimiento ocurre cuando un contaminante es tomado por la planta y no es degradado rápidamente, resultando en una acumulación en la planta.

IX. CONCLUSIONES

Cosmos bipinnatus y *Dahlia* se consideran fitorremediadoras de Cd y Pb en todos los tratamientos por lo tanto se cumple la hipótesis.

Dahlia es hiperacumuladora de Cd, Pb y Zn y *Cosmos bipinnatus* es solo acumuladora

Cosmos bipinnatus llegó a la etapa de floración por lo que esta especie al igual que *Dahlia* se presentan como una alternativa para cubrir suelos contaminados y disminuir los riesgos ambientales por contaminación de suelos, además de embellecer el entorno de las zonas mineras.

X. BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Alvarado J. C., Dasgupta N. S., Ambriz E., Sánchez. Y. J, Villegas J. 2011. Hongos Micorrízicos Arbusculares y la fitorremediación de plomo. Rev. Int. Contam Aambie. 27(4) 357-364.
- ❖ Alloway B. J, 1990. Heavy Metal in Soils. John Wiley & Sons. Reino Unido 399pp
- ❖ Baker. A. j., Reves. D. R., Hajar. A.S., 1994, Heavy metal Accumulation and Tolerance in British Populations of the Metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. and C. Presl (Brassicaceae). New Phytologist, Vol 127, No 1 pp61-68.
- ❖ Batista. G. R., Sánchez R. A. 2009, Fitorremediación de metales pesados y microorganismos, Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente, Cuba, Año 9, No 16. ISSN-1683-8904.
- ❖ Bautista Z. F. 1999. Introducción al Estudio de la contaminación del Suelo por Metales Pesados. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Yucatán México. pp. 99. 1132-6344.

- ❖ Bernal M, P., Clemente, R., Vázquez, S., Walter, J. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcollár. Ecosistemas. Vol 16 Num. 2. pp. 1-14
- ❖ Boopathhy R. 2000. Factors limiting bioremediation technologies. Bioresource technology. 74(2000)63-67.
- ❖ Broadley. M. R., White. P. J., Hammond. P., Zelko I J., Lux A. 2006. Zinc in plants. New Phytologist. **173**: 677–702.
- ❖ Bowen, H.J.M, (1979). Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press London. In Alloway (1990).
- ❖ Capena, R. O., Bernal M.P. (2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. Ecosistemas. 16(2), 1-3.
- ❖ Castro C. A., Rodríguez A., Vargas A. G., Harker M. 2012 Diversidad del genero Dahlia (Asteraceae: Coreopsideae) en Jalisco, México y descripción de una nueva especie. Revista Mexicana de Biodiversidad 83:347-358.

- ❖ Lin. C., Liu. J., Liu L., Zhu T., Sheng L., Wang D. 2008 Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. *Environmental and Experimental Botany* 65 (2009) 410–416.
- ❖ Cruz. L. N, 2010. Especies Leguminosas como fitorremediadoras en suelos contaminados. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias. Edo. De México. Colegio de posgraduados. pp.122.
- ❖ Das. P, Samantaray. S, Rout. R, 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, Vol. 98, No. 1, pp. 29-36.
- ❖ Delgadillo L. A., González R. C., Prieto G. F., Villagómez I. J., Acevedo S. O. 2011. Phytoremediation: an alternative to eliminate pollution. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14 (2011):597-612.
- ❖ Diez, 2008. Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas. Tesis para obtener el grado de Doctor. Universidad de Santiago Compostela. pp.331.

- ❖ Duran C. P. 2010. Transferencia de metales de suelo a plantas en áreas mineras: ejemplos de los Andes peruanos y de la Cordillera Prelitoral Catalana, tesis doctoral, Universidad de Barcelona, Barcelona, pp. 163.
- ❖ Franco-H. M., Vásquez M. M., Patiño-S. A., Dendooven L. 2010 Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Bioresource Technology* 101 3864–3869.
- ❖ Galán H. E., Romero B.A. 2008 Contaminación de suelos por metales pesados. Departamento de cristalografía, mineralogía y química agrícola. Facultad de química. Apartado 553. Universidad de Sevilla. Sevilla 41071.
- ❖ Gómez B. M., Santana C. J., Romero F. M., Armienta H. A., Morton B. O., Ruiz H. A., 2010, plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *Bol .Soc. Bot. Méx.* **87**: 131-133.
- ❖ González C M.C., Pérez M.J. y Carillo-González R. 2005. El sistema planta-Microorganismo-suelo en áreas contaminadas con residuos de minas. Colegio de posgraduados. Texcoco, México.

- ❖ Gupta. K. D., Huang h. G., Corpas F. G. 2013. Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediaton. Environ Sci Pollut Res. 20:2150–2161.
- ❖ Han F.X., Banin A., Kingery W., Triplett G., Zhou L., Zheng D W. 2003, New approach to studies of heavy metal redistribution in soil. Advances in Environmental Research 113–120.
- ❖ Hernández Z. M. 2009. Estudio de la acumulación de plomo y cadmio por *Asphodelus Fistulosus* L. y *Brassica Juncea* L para fitorremediar jales. Tesis para obtener el grado de maestra en biotecnología, Ciudad de México. UAM pp75.
- ❖ Incorvia M. M., Lannucci-B W., Musante C., Jason C. W. 2003 Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organicpollutants from soil. Environmental Pollution 124 (2003) 375–378.
- ❖ Kabata. Pendías. A, Pendías. H 1992. Trace Elements in Soils and Plants 2nd ed. CRC Press, Inc., Boca Raton. Florida. 365 pp.
- ❖ Kabata. Pendías. A, Pendías. 2000. Trace Elements in Soils and Plants. Third Edition. CRC Press, Inc., Boca Raton. USA. 365 pp.

- ❖ López. M. S., Gallegos. M. M., Pérez. F. L., Gutiérrez R. M., 2005, Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas, Rev. int. Contam. Ambient 21(2) 91-100.
- ❖ Mengel Konrad., Kirkby A E. 1982. Principles of plant nutrition. International Potash institute. Bern, Switzerland. pp. 655.
- ❖ Menéndez. T. M. 2009. Minería y enfermedad en Zimapán, Hidalgo: Estudio patológico de la colección esquelética del panteón Santiago apóstol, tesis para otorgar grado de maestra en antropología, UNAM, Ciudad de México, pp 170.
- ❖ Monni, S., Uhlig, C., Hansen, E., Magel, E. 2001. Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. Environmental Pollution 112, 121–129.
- ❖ Nabulo G., Black C. R., Young S. D., 2011 Trace metal uptake by tropical vegetables grown on soil amended with urban sewage sludge. Environmental pollution 159(2011) 368-376.

- ❖ Norma Oficial Mexicana NOM-021-RENACT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. 17 de Octubre 2000.
- ❖ Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Dario Oficial. Mexico 2 de Marzo 2007.
- ❖ Prasad M.N.V. 1995. Cadmium Toxicity and tolerance in vascular plants. *Endronmental andl: penrnmtal Bota O*, Vol. 35, No. 4, pp. 525 545.
- ❖ Palacios C., Sanchez W. 2006. Acumulación de altas concentraciones de cobre en plantas de *Tithoniadiversifolia* en diferentes tipos de suelos. Para obtener el título de Química. Universidad Industrial de Santander.
- ❖ Panorama Minero del Estado de Hidalgo, septiembre 2010. www.smg.gob.mx.

- ❖ Radojevic, M, and Bashkin, N. V. 1999. Practical Environmental Analysis. Royal Society of Chemistry and Thoma Graham House, Cambridge, pp 180-430.
- ❖ Ríos. G. R, 1985. Practicas del módulo de edafología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza .UNAM.
- ❖ Rivera. C. M., Ferrera. C. F., Sánchez G. P., Volke. H. V., Fernández L. L. Rodríguez. V. R. 2004 Descontaminación de suelos con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.] Agrobiencia 38: 1-12. 2004.
- ❖ Rodríguez A., Harker, A. M., Quezada-S. y Casillas-G. S. Diversidad y potencial ornamental del género cosmos Cav. (Asteraceae) en Jalisco. Universidad de Guadalajara. 2006 – Avances en la Investigación Científica en el CUCBA. 970-27-1045-6.
- ❖ Rodríguez E. M., Delgado A. A., González C.A., Gonzales C. R., Mejía M. J., Hernández V. M. 2009. Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. Radalyc. México, Vol. 35. N° 1.

- ❖ Rodríguez. O. J., Valdez. C. R., Alcalá J. A., García H. L., Rodríguez F. H., Tapia G. J., Pérez M. A., Woo R. L., 2009 Relaciones entre Cd, Pb y elementos esenciales en el proceso de fitoacumulación en *Nicotianatabacum* L. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 5 (3): 205-211.
- ❖ Ross, M. S, 1994. Toxic metals in soil-plant systems. John Wiley & Sons. PP- 63-152.
- ❖ Salas S. F. 2007. Selección un vitro de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación. Tesis para obtener grado de especialista en biotecnología. Ciudad de México. Universidad Autónoma Metropolitana (UAMI). pp 32.
- ❖ Sharma P., Shanker D. 2005. Lead in plants. Toxic Metal in Plants. *Braz J. Physiol.* 17(1):35-52.
- ❖ Singh, O. V., S. Labana, S., Pandey, G. y Budhiraja, R. 2003 Phytoremediation: Anoverview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 61 405-412.
- ❖ Soto A, German V. 2010 Plantas con flores que atraen mariposas. Costa rica Ed. INBIO. Primera edición.

- ❖ Scoullos. M. J, Vonkenman. G. H, Thornton. I, Makuch. Z, 2009. Handbook for sustainable Heavy Metals Policy and Regulation. Kluwer Academic Publishers .pp.525.
- ❖ Tanhan P., Pokethitiyook P., Kruatrachue M., Chaiyarat R., Upatham S. 2011. Effects of soil amendments and edta on lead uptake by *chromolaenaodorata*: greenhouse and field trial experiments. *International Journal of Phytoremediation*, 13:897–911.
- ❖ Toppi. L. S., Gabbrielli. 1998. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41 (1999) 105–130.
- ❖ Villegas y de Gante, M., 1979. Malezas de la Cuenca de México. Instituto de Ecología. Museo Natural de la Ciudad de México. México, D.F.
- ❖ Volke .S. T, Velasco T. J., Rosa. P. D. 2005. La contaminación de suelos por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología. Primera edición. México.

- ❖ Xiong T, Z. 1997. Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environmental Pollution*, Vol. 97, No. 3, pp. 275-279.
- ❖ Xiu. Z. H., Dong-M. Z., Dan D. L., Ping J. 2012. Growth, Cadmium and Zinc Accumulation of Ornamental Sunflower (*Helianthus annuus* L.) in Contaminated Soil with Different Amendments. *Pedosphere* 22(5): 631–639.
- ❖ Yu. L. H., Yan Y. H., Zhen H. S., Guo Z., Xia B., Gu J., 2007- Cadmium tolerance and accumulation by two species of iris. *Ecotoxicology* (2007) 16:557-563.
- ❖ Zhang. X, Xia. H, Li. Z, Zhuang. P, Gao. B. 2010. Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology* 101(2010) 2063-2066.
- ❖ CONABIO
[http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/cosmos bipinnatus/fichas/ficha.htm](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/cosmos_bipinnatus/fichas/ficha.htm) revisada 8- agosto-2010
- ❖ <http://intranet.ehidalgo.gob.mx/enciclomuni/municipios/13048a.htm> revisada 8- agosto-2010

ANEXO 1

SUPERVIVENCIA *Cosmos bipinnatus*.

Pruebas de múltiple rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TC	3	33.33	X
C 40%	3	33.33	X
C 20%	3	33.33	X
C 80%	3	50.0	X
C 60%	3	83.33	X
C 100%	3	100.0	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 12 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%	*	66.67	0
C 100% - C 40%	*	66.67	0
C 100% - C 60%	*	16.67	0
C 100% - C 80%	*	50.0	0
C 100% - TC	*	66.67	0
C 20% - C 40%		0	0
C 20% - C 60%	*	-50.0	0
C 20% - C 80%	*	-16.67	0
C 20% - TC		0	0
C 40% - C 60%	*	-50.0	0
C 40% - C 80%	*	-16.67	0
C 40% - TC		0	0
C 60% - C 80%	*	33.33	0
C 60% - TC	*	50.0	0
C 80% - TC	*	16.67	0

* indica una diferencia significativa.

ALTURA *Cosmos bipinnatus*.

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TC	3	20.5	X
C 80%	3	25.7	X
C 100%	3	25.7	X
C 60%	3	26.2	X
C 40%	3	34.9	X
C 20%	3	39.8	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 14 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%	*	-14.1	0
C 100% - C 40%	*	-9.2	0
C 100% - C 60%	*	-0.5	0
C 100% - C 80%		0	0
C 100% - TC	*	5.2	0
C 20% - C 40%	*	4.9	0
C 20% - C 60%	*	13.6	0
C 20% - C 80%	*	14.1	0
C 20% - TC	*	19.3	0
C 40% - C 60%	*	8.7	0
C 40% - C 80%	*	9.2	0
C 40% - TC	*	14.4	0
C 60% - C 80%	*	0.5	0
C 60% - TC	*	5.7	0
C 80% - TC	*	5.2	0

* indica una diferencia significativa

HOJAS *Cosmos bipinnatus*.

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C 40%	3	10.0	X
TC	3	12.0	X
C 60%	3	12.0	X
C 20%	3	12.0	X
C 100%	3	12.0	X
C 80%	3	14.0	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 9 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%		0	0
C 100% - C 40%	*	2.0	0
C 100% - C 60%		0	0
C 100% - C 80%	*	-2.0	0
C 100% - TC		0	0
C 20% - C 40%	*	2.0	0
C 20% - C 60%		0	0
C 20% - C 80%	*	-2.0	0
C 20% - TC		0	0
C 40% - C 60%	*	-2.0	0
C 40% - C 80%	*	-4.0	0
C 40% - TC	*	-2.0	0
C 60% - C 80%	*	-2.0	0
C 60% - TC		0	0
C 80% - TC	*	2.0	0

* indica una diferencia significativa.

COBERTURA *Cosmos bipinnatus*.

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>C.TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Cosmos bipinnatus 80%	3	16.15	X
Cosmos bipinnatus 40%	3	20.96	X
Cosmos bipinnatus 20%	3	21.16	X
Cosmos bipinnatus Testigo	3	21.63	X
Cosmos bipinnatus 60%	3	21.71	X
Cosmos bipinnatus 100%	3	25.03	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 15 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 6 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%		3.8	17.84
C 100% - C 40%		4.0	17.84
C 100% - C 60%		3.3	17.84
C 100% - C 80%		8.8	17.84
C 100% - TC		3.4	17.84
C 20% - C 40%		0.2	17.84
C 20% - C 60%		-0.5	17.84
C 20% - C 80%		5.0	17.84
C 20% - TC		-0.4	17.84
C 40% - C 60%		-0.7	17.84
C 40% - C 80%		4.8	17.84
C 40% - TC		-0.6	17.84
C 60% - C 80%		5.5	17.84
C 60% - TC		0.1	17.84
C 80% - TC		-5.4	17.84

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 2

SUPERVIVENCIA *Dahlia*

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D 40%	3	0	X
TD	3	16.66	X
D 20%	3	33.33	X
D 80%	3	33.33	X
D 100%	3	33.33	X
D 60%	3	50.0	X

Método: 95.0 porcentaje LSD.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 12 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D 100% - D 20%		0	0
D 100% - D 40%	*	33.33	0
D 100% - D 60%	*	-16.67	0
D 100% - D 80%		0	0
D 100% - TD	*	16.67	0
D 20% - D 40%	*	33.33	0
D 20% - D 60%	*	-16.67	0
D 20% - D 80%		0	0
D 20% - TD	*	16.67	0
D 40% - D 60%	*	-50.0	0
D 40% - D 80%	*	-33.33	0
D 40% - TD	*	-16.66	0
D 60% - D 80%	*	16.67	0
D 60% - TD	*	33.34	0
D 80% - TD	*	16.67	0

* indica una diferencia significativa.

ALTURA *Dahlia*

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
D 80%	3	21.2	X
D 100%	3	23.5	X
D 20%	3	23.9	X
D 40%	3	26.0	X
D 60%	3	30.3	X
TD	3	42.8	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 15 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 6 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D 100% - D 20%	*	-0.4	0
D 100% - D 40%	*	-2.5	0
D 100% - D 60%	*	-6.8	0
D 100% - D 80%	*	2.3	0
D 100% - TD	*	-19.3	0
D 20% - D 40%	*	-2.1	0
D 20% - D 60%	*	-6.4	0
D 20% - D 80%	*	2.7	0
D 20% - TD	*	-18.9	0
D 40% - D 60%	*	-4.3	0
D 40% - D 80%	*	4.8	0
D 40% - TD	*	-16.8	0
D 60% - D 80%	*	9.1	0
D 60% - TD	*	-12.5	0
D 80% - TD	*	-21.6	0

* indica una diferencia significativa.

HOJAS *Dahlia*

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D 80%	3	5.0	X
D 100%	3	5.0	X
D 20%	3	6.0	X
D 60%	3	7.0	X
TD	3	8.0	X
D 40%	3	8.0	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 13 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D 100% - D 20%	*	-1.0	0
D 100% - D 40%	*	-3.0	0
D 100% - D 60%	*	-2.0	0
D 100% - D 80%		0	0
D 100% - TD	*	-3.0	0
D 20% - D 40%	*	-2.0	0
D 20% - D 60%	*	-1.0	0
D 20% - D 80%	*	1.0	0
D 20% - TD	*	-2.0	0
D 40% - D 60%	*	1.0	0
D 40% - D 80%	*	3.0	0
D 40% - TD		0	0
D 60% - D 80%	*	2.0	0
D 60% - TD	*	-1.0	0
D 80% - TD	*	-3.0	0

* indica una diferencia significativa.

COBERTURA *Dahlia*.

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
D 80%	3	13.4	X
D 100%	3	53.0	X
D 20%	3	69.6	X
D 60%	3	93.0	X
TD	3	124.4	X
D 40%	3	168.5	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 15 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 6 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D 100% - D 20%	*	-16.6	0
D 100% - D 40%	*	-115.5	0
D 100% - D 60%	*	-40.0	0
D 100% - D 80%	*	39.6	0
D 100% - TD	*	-71.4	0
D 20% - D 40%	*	-98.9	0
D 20% - D 60%	*	-23.4	0
D 20% - D 80%	*	56.2	0
D 20% - TD	*	-54.8	0
D 40% - D 60%	*	75.5	0
D 40% - D 80%	*	155.1	0
D 40% - TD	*	44.1	0
D 60% - D 80%	*	79.6	0
D 60% - TD	*	-31.4	0
D 80% - TD	*	-111.0	0

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 3 METALES EN COSMOS

CADMIO EN LA ESTRUCTURA DE *Cosmos bipinnatus*

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CS	3	7.94	X
CT	3	49.18	X
C 20%	3	55.0	X
C 100%	3	57.64	X
C 60%	3	59.55	X
C 80%	3	61.59	X
C 40%	3	69.5	X

Método: 95.0 porcentaje LSD.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 21 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 7 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%	*	2.64	0
C 100% - C 40%	*	-11.86	0
C 100% - C 60%	*	-1.91	0
C 100% - C 80%	*	-3.95	0
C 100% - CS	*	49.7	0
C 100% - CT	*	8.46	0
C 20% - C 40%	*	-14.5	0
C 20% - C 60%	*	-4.55	0
C 20% - C 80%	*	-6.59	0
C 20% - CS	*	47.06	0
C 20% - CT	*	5.82	0
C 40% - C 60%	*	9.95	0
C 40% - C 80%	*	7.91	0
C 40% - CS	*	61.56	0
C 40% - CT	*	20.32	0
C 60% - C 80%	*	-2.04	0
C 60% - CS	*	51.61	0
C 60% - CT	*	10.37	0
C 80% - CS	*	53.65	0
C 80% - CT	*	12.41	0
CS - CT	*	-41.24	0

* indica una diferencia significativa.

PLOMO EN LA ESTRUCTURA DE *Cosmos bipinnatus*

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CS	3	87.22	X
CT	3	510.0	X
C 20%	3	619.23	X
C 40%	3	700.0	X
C 100%	3	737.5	X
C 60%	3	740.91	X
C 80%	3	813.64	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 21 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 7 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%	*	118.27	0
C 100% - C 40%	*	37.5	0
C 100% - C 60%	*	-3.41	0
C 100% - C 80%	*	-76.14	0
C 100% - CS	*	650.28	0
C 100% - CT	*	227.5	0
C 20% - C 40%	*	-80.77	0
C 20% - C 60%	*	-121.68	0
C 20% - C 80%	*	-194.41	0
C 20% - CS	*	532.01	0
C 20% - CT	*	109.23	0
C 40% - C 60%	*	-40.91	0
C 40% - C 80%	*	-113.64	0
C 40% - CS	*	612.78	0
C 40% - CT	*	190.0	0
C 60% - C 80%	*	-72.73	0
C 60% - CS	*	653.69	0
C 60% - CT	*	230.91	0
C 80% - CS	*	726.42	0
C 80% - CT	*	303.64	0
CS - CT	*	-422.78	0

* indica una diferencia significativa.

ZINC EN LAS ESTRUCTURAS DE *Cosmos bipinnatus*

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CS	3	19.66	X
C 20%	3	61.29	X
C 100%	3	70.43	X
C 80%	3	79.95	X
C 60%	3	93.48	X
C 40%	3	102.9	X
CT	3	122.85	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 21 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 7 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C 100% - C 20%	*	9.14	0
C 100% - C 40%	*	-32.47	0
C 100% - C 60%	*	-23.05	0
C 100% - C 80%	*	-9.52	0
C 100% - CS	*	50.77	0
C 100% - CT	*	-52.42	0
C 20% - C 40%	*	-41.61	0
C 20% - C 60%	*	-32.19	0
C 20% - C 80%	*	-18.66	0
C 20% - CS	*	41.63	0
C 20% - CT	*	-61.56	0
C 40% - C 60%	*	9.42	0
C 40% - C 80%	*	22.95	0
C 40% - CS	*	83.24	0
C 40% - CT	*	-19.95	0
C 60% - C 80%	*	13.53	0
C 60% - CS	*	73.82	0
C 60% - CT	*	-29.37	0
C 80% - CS	*	60.29	0
C 80% - CT	*	-42.9	0
CS - CT	*	-103.19	0

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 4.
METALES EN LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS DE *Dahlia*

CADMIO EN LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS DE *Dahlia*.

Pruebas de Múltiple Rangos

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
DH 40%	3	15.4	X
TDH	3	24.167	X
DT 40%	3	25.278	X
DH 60%	3	28.333	X
DR 40%	3	36.917	X
DR 80%	3	41.389	X
DH 80%	3	41.5	X
TDR	3	43.125	X
DR 60%	3	44.778	X
DT 60%	3	47.444	X
DR 20%	3	48.667	X
DR 100%	3	61.25	X
DH 20%	3	69.5	X
TDT	3	71.667	X
DT 20%	3	72.333	X
DT 100%	3	74.25	X
DT 80%	3	75.333	X
DH 100%	3	75.833	X

Método: 95.0 porcentaje LSD.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 153 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 18 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
DH 100% - DH 20%	*	6.333	0
DH 100% - DH 40%	*	60.433	0
DH 100% - DH 60%	*	47.5	0
DH 100% - DH 80%	*	34.333	0
DH 100% - DR 100%	*	14.583	0
DH 100% - DR 20%	*	27.166	0
DH 100% - DR 40%	*	38.916	0
DH 100% - DR 60%	*	31.055	0
DH 100% - DR 80%	*	34.444	0
DH 100% - DT 100%	*	1.583	0
DH 100% - DT 20%	*	3.5	0
DH 100% - DT 40%	*	50.555	0
DH 100% - DT 60%	*	28.389	0
DH 100% - DT 80%	*	0.5	0
DH 100% - TDH	*	51.666	0
DH 100% - TDR	*	32.708	0
DH 100% - TDT	*	4.166	0
DH 20% - DH 40%	*	54.1	0
DH 20% - DH 60%	*	41.167	0
DH 20% - DH 80%	*	28.0	0
DH 20% - DR 100%	*	8.25	0
DH 20% - DR 20%	*	20.833	0
DH 20% - DR 40%	*	32.583	0

DH 20% - DR 60%	*	24.722	0
DH 20% - DR 80%	*	28.111	0
DH 20% - DT 100%	*	-4.75	0
DH 20% - DT 20%	*	-2.833	0
DH 20% - DT 40%	*	44.222	0
DH 20% - DT 60%	*	22.056	0
DH 20% - DT 80%	*	-5.833	0
DH 20% - TDH	*	45.333	0
DH 20% - TDR	*	26.375	0
DH 20% - TDT	*	-2.167	0
DH 40% - DH 60%	*	-12.933	0
DH 40% - DH 80%	*	-26.1	0
DH 40% - DR 100%	*	-45.85	0
DH 40% - DR 20%	*	-33.267	0
DH 40% - DR 40%	*	-21.517	0
DH 40% - DR 60%	*	-29.378	0
DH 40% - DR 80%	*	-25.989	0
DH 40% - DT 100%	*	-58.85	0
DH 40% - DT 20%	*	-56.933	0
DH 40% - DT 40%	*	-9.878	0
DH 40% - DT 60%	*	-32.044	0
DH 40% - DT 80%	*	-59.933	0
DH 40% - TDH	*	-8.767	0
DH 40% - TDR	*	-27.725	0
DH 40% - TDT	*	-56.267	0
DH 60% - DH 80%	*	-13.167	0
DH 60% - DR 100%	*	-32.917	0
DH 60% - DR 20%	*	-20.334	0
DH 60% - DR 40%	*	-8.584	0
DH 60% - DR 60%	*	-16.445	0
DH 60% - DR 80%	*	-13.056	0
DH 60% - DT 100%	*	-45.917	0
DH 60% - DT 20%	*	-44.0	0
DH 60% - DT 40%	*	3.055	0
DH 60% - DT 60%	*	-19.111	0
DH 60% - DT 80%	*	-47.0	0
DH 60% - TDH	*	4.166	0
DH 60% - TDR	*	-14.792	0
DH 60% - TDT	*	-43.334	0
DH 80% - DR 100%	*	-19.75	0

DH 80% - DR 20%	*	-7.167	0
DH 80% - DR 40%	*	4.583	0
DH 80% - DR 60%	*	-3.278	0
DH 80% - DR 80%	*	0.111	0
DH 80% - DT 100%	*	-32.75	0
DH 80% - DT 20%	*	-30.833	0
DH 80% - DT 40%	*	16.222	0
DH 80% - DT 60%	*	-5.944	0
DH 80% - DT 80%	*	-33.833	0
DH 80% - TDH	*	17.333	0
DH 80% - TDR	*	-1.625	0
DH 80% - TDT	*	-30.167	0
DR 100% - DR 20%	*	12.583	0
DR 100% - DR 40%	*	24.333	0
DR 100% - DR 60%	*	16.472	0
DR 100% - DR 80%	*	19.861	0
DR 100% - DT 100%	*	-13.0	0
DR 100% - DT 20%	*	-11.083	0
DR 100% - DT 40%	*	35.972	0
DR 100% - DT 60%	*	13.806	0
DR 100% - DT 80%	*	-14.083	0
DR 100% - TDH	*	37.083	0
DR 100% - TDR	*	18.125	0
DR 100% - TDT	*	-10.417	0
DR 20% - DR 40%	*	11.75	0
DR 20% - DR 60%	*	3.889	0
DR 20% - DR 80%	*	7.278	0
DR 20% - DT 100%	*	-25.583	0
DR 20% - DT 20%	*	-23.666	0
DR 20% - DT 40%	*	23.389	0
DR 20% - DT 60%	*	1.223	0
DR 20% - DT 80%	*	-26.666	0
DR 20% - TDH	*	24.5	0
DR 20% - TDR	*	5.542	0
DR 20% - TDT	*	-23.0	0
DR 40% - DR 60%	*	-7.861	0
DR 40% - DR 80%	*	-4.472	0
DR 40% - DT 100%	*	-37.333	0
DR 40% - DT 20%	*	-35.416	0
DR 40% - DT 40%	*	11.639	0

DR 40% - DT 60%	*	-10.527	0
DR 40% - DT 80%	*	-38.416	0
DR 40% - TDH	*	12.75	0
DR 40% - TDR	*	-6.208	0
DR 40% - TDT	*	-34.75	0
DR 60% - DR 80%	*	3.389	0
DR 60% - DT 100%	*	-29.472	0
DR 60% - DT 20%	*	-27.555	0
DR 60% - DT 40%	*	19.5	0
DR 60% - DT 60%	*	-2.666	0
DR 60% - DT 80%	*	-30.555	0
DR 60% - TDH	*	20.611	0
DR 60% - TDR	*	1.653	0
DR 60% - TDT	*	-26.889	0
DR 80% - DT 100%	*	-32.861	0
DR 80% - DT 20%	*	-30.944	0
DR 80% - DT 40%	*	16.111	0
DR 80% - DT 60%	*	-6.055	0
DR 80% - DT 80%	*	-33.944	0
DR 80% - TDH	*	17.222	0
DR 80% - TDR	*	-1.736	0
DR 80% - TDT	*	-30.278	0
DT 100% - DT 20%	*	1.917	0
DT 100% - DT 40%	*	48.972	0
DT 100% - DT 60%	*	26.806	0
DT 100% - DT 80%	*	-1.083	0
DT 100% - TDH	*	50.083	0
DT 100% - TDR	*	31.125	0
DT 100% - TDT	*	2.583	0
DT 20% - DT 40%	*	47.055	0
DT 20% - DT 60%	*	24.889	0
DT 20% - DT 80%	*	-3.0	0
DT 20% - TDH	*	48.166	0
DT 20% - TDR	*	29.208	0
DT 20% - TDT	*	0.666	0
DT 40% - DT 60%	*	-22.166	0
DT 40% - DT 80%	*	-50.055	0
DT 40% - TDH	*	1.111	0
DT 40% - TDR	*	-17.847	0
DT 40% - TDT	*	-46.389	0

DT 60% - DT 80%	*	-27.889	0
DT 60% - TDH	*	23.277	0
DT 60% - TDR	*	4.319	0
DT 60% - TDT	*	-24.223	0
DT 80% - TDH	*	51.166	0
DT 80% - TDR	*	32.208	0
DT 80% - TDT	*	3.666	0
TDH – TDR	*	-18.958	0
TDH – TDT	*	-47.5	0
TDR – TDT	*	-28.542	0

* indica una diferencia significativa.

PLOMO EN LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS DE *Dahlia*.

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
DH 40%	3	164.0	X
DT 40%	3	200.0	X
DH 60%	3	265.56	X
TDH	3	266.67	X
DR 40%	3	349.17	X
DR 80%	3	350.0	X
DH 80%	3	374.17	X
TDR	3	462.5	X
DT 60%	3	472.22	X
DR 60%	3	524.44	X
DR 20%	3	563.33	X
DR 100%	3	583.33	X
DT 100%	3	642.5	X
DT 80%	3	710.0	X
DH 20%	3	736.67	X
TDT	3	773.33	X
DH 100%	3	778.33	X
DT 20%	3	866.67	X

Método: 95.0 porcentaje LSD.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 153 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 18 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
DH 100% - DH 20%	*	41.66	0
DH 100% - DH 40%	*	614.33	0
DH 100% - DH 60%	*	512.77	0
DH 100% - DH 80%	*	404.16	0
DH 100% - DR 100%	*	195.0	0
DH 100% - DR 20%	*	215.0	0
DH 100% - DR 40%	*	429.16	0
DH 100% - DR 60%	*	253.89	0
DH 100% - DR 80%	*	428.33	0
DH 100% - DT 100%	*	135.83	0
DH 100% - DT 20%	*	-88.34	0
DH 100% - DT 40%	*	578.33	0
DH 100% - DT 60%	*	306.11	0
DH 100% - DT 80%	*	68.33	0
DH 100% - TDH	*	511.66	0
DH 100% - TDR	*	315.83	0
DH 100% - TDT	*	5.0	0
DH 20% - DH 40%	*	572.67	0
DH 20% - DH 60%	*	471.11	0
DH 20% - DH 80%	*	362.5	0
DH 20% - DR 100%	*	153.34	0
DH 20% - DR 20%	*	173.34	0
DH 20% - DR 40%	*	387.5	0

DH 20% - DR 60%	*	212.23	0
DH 20% - DR 80%	*	386.67	0
DH 20% - DT 100%	*	94.17	0
DH 20% - DT 20%	*	-130.0	0
DH 20% - DT 40%	*	536.67	0
DH 20% - DT 60%	*	264.45	0
DH 20% - DT 80%	*	26.67	0
DH 20% - TDH	*	470.0	0
DH 20% - TDR	*	274.17	0
DH 20% - TDT	*	-36.66	0
DH 40% - DH 60%	*	-101.56	0
DH 40% - DH 80%	*	-210.17	0
DH 40% - DR 100%	*	-419.33	0
DH 40% - DR 20%	*	-399.33	0
DH 40% - DR 40%	*	-185.17	0
DH 40% - DR 60%	*	-360.44	0
DH 40% - DR 80%	*	-186.0	0
DH 40% - DT 100%	*	-478.5	0
DH 40% - DT 20%	*	-702.67	0
DH 40% - DT 40%	*	-36.0	0
DH 40% - DT 60%	*	-308.22	0
DH 40% - DT 80%	*	-546.0	0
DH 40% - TDH	*	-102.67	0
DH 40% - TDR	*	-298.5	0
DH 40% - TDT	*	-609.33	0
DH 60% - DH 80%	*	-108.61	0
DH 60% - DR 100%	*	-317.77	0
DH 60% - DR 20%	*	-297.77	0
DH 60% - DR 40%	*	-83.61	0
DH 60% - DR 60%	*	-258.88	0
DH 60% - DR 80%	*	-84.44	0
DH 60% - DT 100%	*	-376.94	0
DH 60% - DT 20%	*	-601.11	0
DH 60% - DT 40%	*	65.56	0
DH 60% - DT 60%	*	-206.66	0
DH 60% - DT 80%	*	-444.44	0
DH 60% - TDH	*	-1.11	0
DH 60% - TDR	*	-196.94	0
DH 60% - TDT	*	-507.77	0
DH 80% - DR 100%	*	-209.16	0

DH 80% - DR 20%	*	-189.16	0
DH 80% - DR 40%	*	25.0	0
DH 80% - DR 60%	*	-150.27	0
DH 80% - DR 80%	*	24.17	0
DH 80% - DT 100%	*	-268.33	0
DH 80% - DT 20%	*	-492.5	0
DH 80% - DT 40%	*	174.17	0
DH 80% - DT 60%	*	-98.05	0
DH 80% - DT 80%	*	-335.83	0
DH 80% - TDH	*	107.5	0
DH 80% - TDR	*	-88.33	0
DH 80% - TDT	*	-399.16	0
DR 100% - DR 20%	*	20.0	0
DR 100% - DR 40%	*	234.16	0
DR 100% - DR 60%	*	58.89	0
DR 100% - DR 80%	*	233.33	0
DR 100% - DT 100%	*	-59.17	0
DR 100% - DT 20%	*	-283.34	0
DR 100% - DT 40%	*	383.33	0
DR 100% - DT 60%	*	111.11	0
DR 100% - DT 80%	*	-126.67	0
DR 100% - TDH	*	316.66	0
DR 100% - TDR	*	120.83	0
DR 100% - TDT	*	-190.0	0
DR 20% - DR 40%	*	214.16	0
DR 20% - DR 60%	*	38.89	0
DR 20% - DR 80%	*	213.33	0
DR 20% - DT 100%	*	-79.17	0
DR 20% - DT 20%	*	-303.34	0
DR 20% - DT 40%	*	363.33	0
DR 20% - DT 60%	*	91.11	0
DR 20% - DT 80%	*	-146.67	0
DR 20% - TDH	*	296.66	0
DR 20% - TDR	*	100.83	0
DR 20% - TDT	*	-210.0	0
DR 40% - DR 60%	*	-175.27	0
DR 40% - DR 80%	*	-0.83	0
DR 40% - DT 100%	*	-293.33	0
DR 40% - DT 20%	*	-517.5	0
DR 40% - DT 40%	*	149.17	0

DR 40% - DT 60%	*	-123.05	0
DR 40% - DT 80%	*	-360.83	0
DR 40% - TDH	*	82.5	0
DR 40% - TDR	*	-113.33	0
DR 40% - TDT	*	-424.16	0
DR 60% - DR 80%	*	174.44	0
DR 60% - DT 100%	*	-118.06	0
DR 60% - DT 20%	*	-342.23	0
DR 60% - DT 40%	*	324.44	0
DR 60% - DT 60%	*	52.22	0
DR 60% - DT 80%	*	-185.56	0
DR 60% - TDH	*	257.77	0
DR 60% - TDR	*	61.94	0
DR 60% - TDT	*	-248.89	0
DR 80% - DT 100%	*	-292.5	0
DR 80% - DT 20%	*	-516.67	0
DR 80% - DT 40%	*	150.0	0
DR 80% - DT 60%	*	-122.22	0
DR 80% - DT 80%	*	-360.0	0
DR 80% - TDH	*	83.33	0
DR 80% - TDR	*	-112.5	0
DR 80% - TDT	*	-423.33	0
DT 100% - DT 20%	*	-224.17	0
DT 100% - DT 40%	*	442.5	0
DT 100% - DT 60%	*	170.28	0
DT 100% - DT 80%	*	-67.5	0
DT 100% - TDH	*	375.83	0
DT 100% - TDR	*	180.0	0
DT 100% - TDT	*	-130.83	0
DT 20% - DT 40%	*	666.67	0
DT 20% - DT 60%	*	394.45	0
DT 20% - DT 80%	*	156.67	0
DT 20% - TDH	*	600.0	0
DT 20% - TDR	*	404.17	0
DT 20% - TDT	*	93.34	0
DT 40% - DT 60%	*	-272.22	0
DT 40% - DT 80%	*	-510.0	0
DT 40% - TDH	*	-66.67	0
DT 40% - TDR	*	-262.5	0
DT 40% - TDT	*	-573.33	0

DT 60% - DT 80%	*	-237.78	0
DT 60% - TDH	*	205.55	0
DT 60% - TDR	*	9.72	0
DT 60% - TDT	*	-301.11	0
DT 80% - TDH	*	443.33	0
DT 80% - TDR	*	247.5	0
DT 80% - TDT	*	-63.33	0
TDH - TDR	*	-195.83	0
TDH - TDT	*	-506.66	0
TDR - TDT	*	-310.83	0

* indica una diferencia significativa.

ZINC EN LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS DE *Dahlia*.

Pruebas de Múltiple Rangos

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TDT	3	12.833	X
TDR	3	34.625	X
TDH	3	47.45	X
DR 20%	3	52.667	X
DT 40%	3	56.65	X
DT 20%	3	61.7	X
DH 20%	3	77.35	X
DR 100%	3	78.875	X
DR 80%	3	80.056	X
DH 80%	3	81.7	X
DH 40%	3	82.923	X
DR 60%	3	88.722	X
DT 60%	3	91.022	X
DT 80%	3	92.6	X
DH 60%	3	103.25	X
DT 100%	3	108.0	X
DR 40%	3	128.017	X
DH 100%	3	134.917	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 153 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 18 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
DH 100% - DH 20%	*	57.567	0
DH 100% - DH 40%	*	51.994	0
DH 100% - DH 60%	*	31.667	0
DH 100% - DH 80%	*	53.217	0
DH 100% - DR 100%	*	56.042	0
DH 100% - DR 20%	*	82.25	0
DH 100% - DR 40%	*	6.9	0
DH 100% - DR 60%	*	46.195	0
DH 100% - DR 80%	*	54.861	0
DH 100% - DT 100%	*	26.917	0
DH 100% - DT 20%	*	73.217	0
DH 100% - DT 40%	*	78.267	0
DH 100% - DT 60%	*	43.895	0
DH 100% - DT 80%	*	42.317	0
DH 100% - TDH	*	87.467	0
DH 100% - TDR	*	100.292	0
DH 100% - TDT	*	122.084	0
DH 20% - DH 40%	*	-5.573	0
DH 20% - DH 60%	*	-25.9	0
DH 20% - DH 80%	*	-4.35	0
DH 20% - DR 100%	*	-1.525	0
DH 20% - DR 20%	*	24.683	0
DH 20% - DR 40%	*	-50.667	0

DH 20% - DR 60%	*	-11.372	0
DH 20% - DR 80%	*	-2.706	0
DH 20% - DT 100%	*	-30.65	0
DH 20% - DT 20%	*	15.65	0
DH 20% - DT 40%	*	20.7	0
DH 20% - DT 60%	*	-13.672	0
DH 20% - DT 80%	*	-15.25	0
DH 20% - TDH	*	29.9	0
DH 20% - TDR	*	42.725	0
DH 20% - TDT	*	64.517	0
DH 40% - DH 60%	*	-20.327	0
DH 40% - DH 80%	*	1.223	0
DH 40% - DR 100%	*	4.048	0
DH 40% - DR 20%	*	30.256	0
DH 40% - DR 40%	*	-45.094	0
DH 40% - DR 60%	*	-5.799	0
DH 40% - DR 80%	*	2.867	0
DH 40% - DT 100%	*	-25.077	0
DH 40% - DT 20%	*	21.223	0
DH 40% - DT 40%	*	26.273	0
DH 40% - DT 60%	*	-8.099	0
DH 40% - DT 80%	*	-9.677	0
DH 40% - TDH	*	35.473	0
DH 40% - TDR	*	48.298	0
DH 40% - TDT	*	70.09	0
DH 60% - DH 80%	*	21.55	0
DH 60% - DR 100%	*	24.375	0
DH 60% - DR 20%	*	50.583	0
DH 60% - DR 40%	*	-24.767	0
DH 60% - DR 60%	*	14.528	0
DH 60% - DR 80%	*	23.194	0
DH 60% - DT 100%	*	-4.75	0
DH 60% - DT 20%	*	41.55	0
DH 60% - DT 40%	*	46.6	0
DH 60% - DT 60%	*	12.228	0
DH 60% - DT 80%	*	10.65	0
DH 60% - TDH	*	55.8	0
DH 60% - TDR	*	68.625	0
DH 60% - TDT	*	90.417	0
DH 80% - DR 100%	*	2.825	0

DH 80% - DR 20%	*	29.033	0
DH 80% - DR 40%	*	-46.317	0
DH 80% - DR 60%	*	-7.022	0
DH 80% - DR 80%	*	1.644	0
DH 80% - DT 100%	*	-26.3	0
DH 80% - DT 20%	*	20.0	0
DH 80% - DT 40%	*	25.05	0
DH 80% - DT 60%	*	-9.322	0
DH 80% - DT 80%	*	-10.9	0
DH 80% - TDH	*	34.25	0
DH 80% - TDR	*	47.075	0
DH 80% - TDT	*	68.867	0
DR 100% - DR 20%	*	26.208	0
DR 100% - DR 40%	*	-49.142	0
DR 100% - DR 60%	*	-9.847	0
DR 100% - DR 80%	*	-1.181	0
DR 100% - DT 100%	*	-29.125	0
DR 100% - DT 20%	*	17.175	0
DR 100% - DT 40%	*	22.225	0
DR 100% - DT 60%	*	-12.147	0
DR 100% - DT 80%	*	-13.725	0
DR 100% - TDH	*	31.425	0
DR 100% - TDR	*	44.25	0
DR 100% - TDT	*	66.042	0
DR 20% - DR 40%	*	-75.35	0
DR 20% - DR 60%	*	-36.055	0
DR 20% - DR 80%	*	-27.389	0
DR 20% - DT 100%	*	-55.333	0
DR 20% - DT 20%	*	-9.033	0
DR 20% - DT 40%	*	-3.983	0
DR 20% - DT 60%	*	-38.355	0
DR 20% - DT 80%	*	-39.933	0
DR 20% - TDH	*	5.217	0
DR 20% - TDR	*	18.042	0
DR 20% - TDT	*	39.834	0
DR 40% - DR 60%	*	39.295	0
DR 40% - DR 80%	*	47.961	0
DR 40% - DT 100%	*	20.017	0
DR 40% - DT 20%	*	66.317	0
DR 40% - DT 40%	*	71.367	0

DR 40% - DT 60%	*	36.995	0
DR 40% - DT 80%	*	35.417	0
DR 40% - TDH	*	80.567	0
DR 40% - TDR	*	93.392	0
DR 40% - TDT	*	115.184	0
DR 60% - DR 80%	*	8.666	0
DR 60% - DT 100%	*	-19.278	0
DR 60% - DT 20%	*	27.022	0
DR 60% - DT 40%	*	32.072	0
DR 60% - DT 60%	*	-2.3	0
DR 60% - DT 80%	*	-3.878	0
DR 60% - TDH	*	41.272	0
DR 60% - TDR	*	54.097	0
DR 60% - TDT	*	75.889	0
DR 80% - DT 100%	*	-27.944	0
DR 80% - DT 20%	*	18.356	0
DR 80% - DT 40%	*	23.406	0
DR 80% - DT 60%	*	-10.966	0
DR 80% - DT 80%	*	-12.544	0
DR 80% - TDH	*	32.606	0
DR 80% - TDR	*	45.431	0
DR 80% - TDT	*	67.223	0
DT 100% - DT 20%	*	46.3	0
DT 100% - DT 40%	*	51.35	0
DT 100% - DT 60%	*	16.978	0
DT 100% - DT 80%	*	15.4	0
DT 100% - TDH	*	60.55	0
DT 100% - TDR	*	73.375	0
DT 100% - TDT	*	95.167	0
DT 20% - DT 40%	*	5.05	0
DT 20% - DT 60%	*	-29.322	0
DT 20% - DT 80%	*	-30.9	0
DT 20% - TDH	*	14.25	0
DT 20% - TDR	*	27.075	0
DT 20% - TDT	*	48.867	0
DT 40% - DT 60%	*	-34.372	0
DT 40% - DT 80%	*	-35.95	0
DT 40% - TDH	*	9.2	0
DT 40% - TDR	*	22.025	0
DT 40% - TDT	*	43.817	0

DT 60% - DT 80%	*	-1.578	0
DT 60% - TDH	*	43.572	0
DT 60% - TDR	*	56.397	0
DT 60% - TDT	*	78.189	0
DT 80% - TDH	*	45.15	0
DT 80% - TDR	*	57.975	0
DT 80% - TDT	*	79.767	0
TDH - TDR	*	12.825	0
TDH - TDT	*	34.617	0
TDR - TDT	*	21.792	0

* indica una diferencia significativa.