



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA**



**Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales  
mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA**

**P R E S E N T A:**

**Biol. Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

**DIRECTORES DE TESIS**

**Dra. Patricia Mussali Galante**

**Dr. Efraín Tovar Sánchez**

**CUERNAVACA, MORELOS**

**MARZO, 2021**

## Resumen

### Índice

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Minería en México.....	1
1.2 Minería en Morelos .....	2
1.3 Consecuencias ambientales por la actividad minera .....	2
1.4 Comportamiento de los metales pesados en el suelo.....	3
1.5 Toxicidad de los metales pesados en plantas.....	6
1.6 Respuestas bioquímicas de las plantas expuestas a metales pesados.....	8
1.7 Biorremediación y fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados .....	10
1.8 Estabilización química.....	12
1.9 Biocarbón como enmienda orgánica para la captación de metales .....	13
2. ANTECEDENTES .....	14
2.1 Estudios en Huautla, Morelos sobre la bioacumulación de metales pesados en especies vegetales acumuladoras .....	14
2.2 <i>Sanvitalia procumbens</i> como especie para fitorremediar suelos contaminados con metales pesados .....	16
2.3 <i>Crotalaria pumila</i> como especie para ser utilizada en procesos de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados .....	17
2.4 Biocarbón como enmienda para la fitoestabilización de metales pesados ..	18
3. JUSTIFICACIÓN .....	19
4. HIPÓTESIS .....	19
5. OBJETIVOS .....	20
5.1 Objetivo general.....	20
5.2 Objetivos particulares.....	20
6. METODOLOGÍA.....	20
6.1 Especies de estudio .....	20
6.2 Sitios de estudio.....	23
6.2.1 Sitio Expuesto.....	23
6.2.2 Sitio Testigo.....	24

6.3	Identificación y colecta de semillas de las especies de estudio .....	24
6.4	Colecta de sustrato del sitio expuesto.....	25
6.5	Germinación de semillas.....	25
6.6	Producción de Biocarbón.....	25
6.7	Medición de metales pesados en raíz y tejido foliar.....	26
6.8	Medición de biomasa .....	27
6.9	Análisis fisicoquímico del biocarbón.....	27
6.9.1	pH.....	28
6.9.2	Materia orgánica.....	28
6.9.3	Nitrógeno total .....	29
6.9.4	Fósforo.....	30
6.10	Análisis estadísticos.....	30
7.	Resultados .....	31
7.1	Pruebas de germinación .....	31
7.2	Análisis fisicoquímico del biocarbón.....	35
7.3	Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos en individuos de <i>Crotalaria pumila</i> en condiciones de invernadero.....	36
7.4	Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> en condiciones de invernadero.....	38
7.5	Efecto del tratamiento sobre la concentración de metales en los individuos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero.....	40
7.6	Efecto del tratamiento sobre la concentración de metales en los individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero .....	46
8.	Discusión.....	53
8.1	Caracterización Fisicoquímica del biocarbón.....	53
8.1.1	pH.....	53
8.1.2	Materia orgánica.....	55
8.1.3	Contenido de Nitrógeno y Fósforo .....	56
8.2	Influencia del biocarbón sobre la absorción y bioacumulación de metales pesados en <i>Crotalaria pumila</i> y <i>Sanvitalia procumbens</i> .....	57

8.3 Influencia del biocarbón sobre la biomasa en <i>Crotalaria pumila</i> y <i>Sanvitalia procumbens</i> .....	70
9. Conclusiones.....	73
10. Perspectivas.....	74
11. Literatura Citada.....	75

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Estudios realizados en la localidad de Huautla, Morelos con especies vegetales dominantes y acumuladoras de metales pesados. ....	15
<b>Tabla 2.</b> Condiciones analíticas de medición del espectrofotómetro de absorción atómica (Manual de uso del espectrofotómetro de absorción atómica, GBC CIENTIFIC EQUIPMENT) .....	27
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de pH de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 .....	28
<b>Tabla 4.</b> Valores de referencia para clasificar la concentración de MO (NOM-021-SEMARNAT-2000). .....	29
<b>Tabla 5.</b> Valores de referencia para clasificar el nitrógeno de suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000). .....	30
<b>Tabla 6.</b> Valores de referencia para clasificar el fósforo de suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000). .....	30
<b>Tabla 7.</b> Resultados de la prueba de germinación de semillas de <i>Crotalaria pumila</i> .....	31
<b>Tabla 8.</b> Resultados de la prueba de germinación de semillas de <i>Sanvitalia procumbens</i> . .....	32
<b>Tabla 9.</b> Resultados del análisis fisicoquímico del biocarbón. ....	35
<b>Tabla 10.</b> Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero. Mediana $\pm$ rango intercuartílico y análisis de Kruskal-Wallis. ....	37
<b>Tabla 11.</b> Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Mediana $\pm$ rango intercuartílico y análisis de Kruskal-Wallis. ....	39
<b>Tabla 12.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 30 días de exposición en individuos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar. ....	42
<b>Tabla 13.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 60 días de exposición en individuos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar. ....	43
<b>Tabla 14.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión	

a los 90 días de exposición en individuos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar. ....	44
<b>Tabla 15.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 120 días de exposición en individuos de <i>Crotalaria pumila</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar. ....	45
<b>Tabla 16.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 30 días de exposición en individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar.....	48
<b>Tabla 17.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 60 días de exposición en individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar.....	49
<b>Tabla 18.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 90 días de exposición en individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar.....	50
<b>Tabla 19.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 120 días de exposición en individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar.....	51
<b>Tabla 20.</b> Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 150 días de exposición en individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> bajo condiciones de invernadero. Promedio $\pm$ desviación estándar.....	52

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Tipos de fitorremediación .....	11
<b>Figura 2.</b> <i>Sanvitalia procumbens</i> Lam en los jales de Huautla, Morelos .....	21
<b>Figura 3:</b> <i>Crotalaria pumila</i> Ort .....	22
<b>Figura 4.</b> Mapa de los sitios de estudio .....	23
<b>Figura 5.</b> Producción de biocarbón instalaciones de la planta de gasificación de la Universidad Nacional Autónoma de México, SAGARPA.....	26
<b>Figura 6.</b> Semillas de <i>Crotalaria pumila</i> escarificadas y en cajas Petri para su germinación.....	32
<b>Figura 7.</b> Semillas de <i>Sanvitalia procumbens</i> germinadas en cajas Petri con papel filtro remojado con nitrato de potasio .....	33
<b>Figura 8.</b> Individuos de <i>Crotalaria pumila</i> antes de ser trasplantadas a macetas (14 días de edad). .....	34
<b>Figura 9.</b> Individuos de <i>Sanvitalia procumbens</i> antes de ser trasplantadas a macetas (21 días de edad).....	34

## RESUMEN

Rosas-Ramírez, M. E. (2021). Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica. Tesis de Maestría. Maestría en Biotecnología, Centro de Investigación en Biotecnología. UAEM.

La actividad minera genera grandes cantidades de residuos conocidos como jales, los cuales contienen una mezcla de diferentes metales pesados (MP) que, al estar biodisponibles, pueden provocar diversas afectaciones a la biota circundante. En particular, la bioacumulación de MP en los productores primarios (plantas) puede afectar los niveles tróficos superiores, alterando la estructura de las comunidades y la dinámica de los ecosistemas. Por lo anterior, se necesitan implementar estrategias de remediación de sitios contaminados por MP. La fitorremediación es una alternativa para remediar estos sitios, ya que se ha documentado que diferentes especies de plantas pueden crecer en lugares contaminados con MP y bioacumularlos en sus estructuras (raíz y hoja principalmente), en este sentido, *Sanvitalia procumbens* y *Crotalaria pumila* son dos especies vegetales reportadas con la capacidad de bioacumular MP. Por otro lado, se ha documentado que la aplicación de biocarbón en suelos contaminados por MP reduce la biodisponibilidad de éstos, inmovilizando a los MP en el suelo y reduciendo la absorción de éstos por parte de las plantas, por lo que en este estudio se propone utilizar biocarbón como enmienda orgánica incorporado al sustrato jale para incrementar el rendimiento del proceso de fitoestabilización de MP de los jales de Huautla, Morelos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la fitoestabilización de jales contaminados con MP (Cd, Cu, Fe, Pb y Zn) utilizando biocarbón incorporado al sustrato jale con las especies vegetales *Sanvitalia procumbens* y *Crotalaria pumila* en condiciones de invernadero. Para ello, se colectaron semillas de las dos especies de estudio de un sitio testigo (Quilamula, Morelos), así como de sustrato de dos jales mineros que se encuentran en Huautla, Morelos (sitio expuesto). Para la producción de biocarbón, la fuente que se utilizó fue la materia orgánica de cáscara de coco. Para la obtención de las plantas, las semillas se germinaron en almácigos con sustrato peat moss, posteriormente, 20 días después de su germinación, las plántulas se trasplantaron a 4 tratamientos: 1) 100% jale, 2) 87.5% jale y 12.5% biocarbón, 3) 75% jale y 25% biocarbón y 4) 50% jale y 50% biocarbón, estos tratamientos fueron para *C. pumila*, mientras que para *S. procumbens* fueron: 1) 100% jale, 2) 93.75% jale y 6.25% biocarbón, 3) 87.5% jale y 12.5% biocarbón y 4) 75% jale y 25% biocarbón. Cada 30 días se realizaron cortes (4 cortes para *C. pumila* y 5 cortes para *S. procumbens*) y en cada corte se sacrificaron 24 individuos (6 individuos por tratamiento). Una vez cosechadas las plantas, en cada corte se pesó el tejido de raíz y foliar, tanto fresco como seco de



cada individuo, y se midió la concentración de MP (Fe, Zn, Cu, Pb y Cd) por espectrofotometría de absorción atómica. Así mismo, se realizó el análisis fisicoquímico del biocarbón obtenido a partir de la cáscara de coco.

Dentro de los resultados, encontramos que el biocarbón tuvo un pH de 10, un porcentaje de materia orgánica de 4.4%, una concentración de nitrógeno inorgánico de 0.033 mg/Kg, fósforo aprovechable de 10.5 mg/Kg y carbono total de 2.6%.

En cuanto a la biomasa de las plantas, para *C. pumila* se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, siendo los individuos crecidos en los tratamientos 2 y 3 (12.5% y 25% de biocarbón respectivamente) los que presentaron mayor biomasa, tanto de raíz como foliar respecto al tratamiento sin biocarbón. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas por tratamiento a través del tiempo. En cuanto a *S. procumbens* se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, siendo los individuos del tratamiento 3 (12.5% de biocarbón) los que presentaron mayor biomasa de raíz y foliar con respecto al tratamiento sin biocarbón. Por otro lado, también se encontraron diferencias significativas por tratamiento a través del tiempo, siendo los individuos de los últimos cortes los que presentaron mayor biomasa de raíz y foliar.

Respecto a la bioacumulación de MP, *Crotalaria pumila* bioacumuló cuatro MP, con el siguiente patrón de bioacumulación  $Fe > Pb > Zn > Cd$  durante los 120 días de exposición. Por su parte, *Sanvitalia procumbens* bioacumuló cinco MP con el siguiente patrón de bioacumulación:  $Fe > Zn > Pb > Cu > Cd$ , el Fe, Zn y Pb se bioacumularon en los 150 días de exposición, el Cu se bioacumuló a partir del día 60 de exposición y hasta final de experimento y el Cd se bioacumuló del día 120 de exposición hasta los 150 días de exposición. De manera general, se encontró un efecto significativo del tratamiento sobre la bioacumulación de MP, para la raíz y foliar, y para las dos especies de estudio. Así mismo se encontró una relación negativa y significativa entre el porcentaje de biocarbón añadido al sustrato jale y la concentración de MP, es decir, a mayor porcentaje de biocarbón, menor bioacumulación de MP en raíz y foliar, para las dos especies de estudio.

Por los resultados mencionados anteriormente, se propone utilizar biocarbón incorporado a sustrato jale para reducir la biodisponibilidad de MP en el suelo, así mismo, se propone su uso en conjunto con especies vegetales como *C. pumila* y *S. procumbens* para incrementar el proceso de fitoestabilización de MP, y así lograr una mayor inmovilización de MP y evitar que los MP entren a las cadenas tróficas.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Minería en México**

La corteza terrestre está formada por minerales de todo tipo, pero solo en ciertas áreas, estos elementos se concentran y permiten, por su volumen, que se realicen explotaciones de valor económico (Coll *et al.*, 2002). Estas explotaciones son realizadas por la minería, definiéndose como una actividad económica primaria que se refiere a la exploración, explotación y aprovechamiento de minerales, de los cuales existe una gran variedad, y se encuentran acumulados al aire libre o en el subsuelo a diferentes niveles de profundidad y son conocidos como yacimientos (INEGI, 2015).

En la República Mexicana, la región norte es la más importante desde el punto de vista minero, ya que, en los estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Zacatecas, Durango y San Luis Potosí, es donde se encuentra la mayor producción de Oro, Plata, Carbón, Zinc, Plomo y Cobre, así como de minerales no metálicos de importancia económica como la barita y la celestita (Coll *et al.*, 2002). Las características naturales de México son propicias para constituirse como una de las naciones líderes en cuanto a la actividad minera. De acuerdo con la CAMIMEX (2013), en el país existen 23 yacimientos clasificados como gigantes, lo que implica que México se posicione en un lugar sobresaliente a nivel mundial.

En el territorio mexicano existen yacimientos de minerales metálicos y no metálicos, y destaca por ser el principal productor de plata en el mundo (Góngora, 2013). El sector minero-metalúrgico en México contribuye con el 4% del Producto Interno Bruto nacional (Secretaría de Economía, 2018), siendo un factor importante en el desarrollo, modernización y avance del país, al suministrar insumos a prácticamente todas las industrias, entre las que destacan las de construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica (Hernández *et al.*, 2009).

## **1.2 Minería en Morelos**

El estado de Morelos se sitúa en la parte centro-sur de la República Mexicana entre los paralelos (18°20' y 19°10' N - 98°30' y 99°30' O). Con una superficie de 4,893 km<sup>2</sup>, abarca 0.2% del territorio nacional. El territorio morelense limita con la CDMX hacia el norte, el estado de Puebla al oriente y suroriente, el estado de Guerrero al sur y suroeste y el estado de México al norte y oeste, y tiene como capital a la ciudad de Cuernavaca (Secretaría de Economía, 2017).

En el estado de Morelos, se lleva a cabo principalmente la minería no metálica, siendo las calizas, los agregados pétreos, y el carbonato de calcio, los minerales más extraídos en varias partes del estado. Los minerales metálicos no cuentan con tradición en el estado, solamente se tiene referencia del distrito minero de Huautla, que se encuentra en el municipio de Tlaquiltenango; este yacimiento empezó a explotarse desde finales del siglo XVIII, obteniendo concentrados de mineral como Plata, Plomo y Zinc principalmente. Actualmente este distrito se encuentra inactivo y encontrándose en un área natural protegida conocida como Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (Secretaría de Economía, 2017).

## **1.3 Consecuencias ambientales por la actividad minera**

Las actividades extractivas como el caso de la minería hacen uso del suelo y del subsuelo, provocando importantes alteraciones al medio, entre las que se encuentran la modificación del relieve, contaminación del agua, suelos y aire (Coll *et al.*, 2002). La disposición final de los residuos generados por la actividad minera ocasiona muchos problemas ambientales (Ramos *et al.*, 2004), entre los que destacan los denominados residuos mineros o jales (Romero y Gutiérrez, 2010), los cuales son el producto de la trituración y molienda de las rocas que contienen los minerales de interés mediante procesos físicos y químicos (Medel *et al.*, 2008). Normalmente estos residuos son depositados sobre distintos tipos de terrenos cercanos a las minas, donde permanecen expuestos a las condiciones climáticas ambientales (Tovar *et al.*, 2009). La disposición final de los jales mineros ocasiona problemas ambientales, ya que contienen elementos potencialmente tóxicos

(EPT), como los metales pesados (MP) que pueden ocasionar problemas por su alta toxicidad, tales como el arsénico (As), Cd, Cu, cromo (Cr), mercurio (Hg), Pb, selenio (Se) y Zn, entre otros (Medel *et al.*, 2008). Uno de los principales problemas ambientales asociado a los jales está relacionado con la generación de drenaje ácido y su dispersión a través de los escurrimientos superficiales (dispersión hídrica) (Romero y Gutiérrez, 2010), mientras que en las zonas áridas se relaciona con la dispersión provocada por el viento (dispersión eólica) (Romero *et al.*, 2008). La composición de los jales por lo general contiene una mezcla de diferentes MP, los cuales son vertidos al medio sin ningún tratamiento previo que los inactive o inmovilice (Rog *et al.*, 2015).

#### **1.4 Comportamiento de los metales pesados en el suelo**

Los MP son elementos químicos con alta densidad (mayor a 5 g/cm<sup>3</sup>), masa y peso atómico superior a 20, y además son tóxicos para los seres vivos en concentraciones bajas para (Londoño *et al.*, 2016). Los MP se encuentran generalmente como componentes naturales de la corteza terrestre, en forma de agregados minerales, sales u otros compuestos. No pueden ser degradados o destruidos de forma natural o biológica ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos (Abollino *et al.*, 2002).

En el suelo, los MP pueden estar presentes como iones libres, compuestos de sales metálicas solubles o bien, compuestos insolubles o parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos e hidróxidos (Prieto *et al.*, 2009). Las características fisicoquímicas del suelo juegan un papel importante en reducir o aumentar la toxicidad de los MP (Puga *et al.*, 2006). La peligrosidad de los MP se relaciona con las propiedades fisicoquímicas que contengan los suelos donde son depositados los jales. A continuación, se describe la influencia de las propiedades fisicoquímicas del suelo sobre el comportamiento de los MP (Galán y Romero, 2008):

1. **pH:** cuando los valores del pH son bajos, se produce desorción de los MP, aumentando su concentración en la solución del suelo y su biodisponibilidad.

En cambio, al aumentar el pH, los MP son fuertemente absorbidos por los coloides del suelo, ocasionando que no se encuentren en la solución del suelo, disminuyendo su biodisponibilidad.

2. **Textura:** en suelos arcillosos, los MP se retienen por adsorción o en el complejo de cambio de los minerales de la arcilla. La mayor parte de las arcillas se caracterizan por tener cargas negativas en su superficie, estas cargas son las responsables de la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) del suelo, por lo que frenan el movimiento de los cationes metálicos en la solución del suelo, lo que hace que los MP permanezcan por más tiempo en el suelo y disminuyan su solubilidad y biodisponibilidad.
3. **Materia Orgánica (M.O.):** los grupos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ) de la materia orgánica reaccionan con los MP formando complejos estables, especialmente en ambientes alcalinos, donde la afinidad es mayor. De esta forma los MP quedan adsorbidos en la M.O. del suelo y en otras formas de M.O. humificada. Por lo tanto, al aumentar la cantidad de M.O. en el suelo, también aumenta la formación de complejos organometálicos estables, haciendo que solubilidad del metal aumente, así como su biodisponibilidad.
4. **Potencial Redox:** la condición redox afecta el tipo de especies de metales en la solución del suelo alterando su solubilidad teniendo un gran efecto sobre la especiación y solubilidad del manganeso (Mn) en la solución del suelo, el cual puede existir como Mn (II), Mn (III) y Mn (IV). Sólo la forma reducida Mn (II) es más estable y soluble en la solución del suelo. En los suelos compactos e inundados, que tienen poca aireación, se ven favorecidas las condiciones de reducción, incrementando la biodisponibilidad de algunos metales como el Mn, Cd, Cu, Cr y Zn y aumentando su toxicidad.
5. **Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC):** la adsorción de los metales a las partículas del suelo reduce la concentración de los metales en la solución del suelo. Así, un suelo con una CIC alta tiene más sitios de intercambio en la fracción coloidal del suelo, los que estarán disponibles para una mayor adsorción y posible inmovilización de los MP.

6. **Carbonatos:** La presencia de carbonatos garantiza el mantenimiento de los altos niveles de pH, donde los MP son menos biodisponibles.
7. **Salinidad:** El aumento de la salinidad puede incrementar la movilización de metales y su retención por dos mecanismos. En una primera fase los cationes sodio (Na) y potasio (K) pueden reemplazar a los MP en lugares de intercambio catiónico. En una segunda fase, los aniones cloruro y sulfato pueden formar compuestos más estables con el Cd, Cu, Hg, Pb y Zn.

Las características mencionadas anteriormente están relacionadas con la biodisponibilidad de los MP hacia los organismos, por lo que, si los MP están biodisponibles, pueden provocar diversas afectaciones a los organismos, siendo las plantas las afectadas en primer lugar hasta llegar a los niveles superiores de la cadena trófica (Rog *et al.*, 2015), debido a que los seres vivos no los pueden degradar o eliminar por completo, tendiéndose a bioacumular en los tejidos de los individuos, provocando afectaciones a nivel molecular o celular y trascendiendo a niveles de organización más complejos como los ecosistemas (Mussali-Galante *et al.*, 2013).

La posibilidad de que un elemento (contaminante o no) quede libre y pase a disolución en un suelo se llama biodisponibilidad, la que sería el grado de libertad en que se encuentra un elemento o compuesto de una fuente potencial para ser capturado por un organismo, ya sea ingerido o absorbido (Galán y Romero, 2008). Normalmente sólo una fracción pequeña de una sustancia potencialmente contaminante de un medio es biodisponible, su efecto suele ser negativo, pero también puede ser indiferente para un organismo específico.

Los MP están considerados como muy peligrosos para los seres vivos en general, pues poseen una gran toxicidad, en parte debido a su elevada tasa a bioacumularse. La bioacumulación significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente (Angelova *et al.*, 2004; Prieto *et al.*, 2009). Este proceso se aumenta durante el paso por las cadenas

tróficas, debido a que los niveles de incorporación sufren un fuerte incremento a lo largo de sus sucesivos eslabones, siendo en los eslabones superiores donde se hallan los mayores niveles de contaminantes, a este proceso se le denomina biomagnificación. Es decir, que la concentración de un contaminante se incrementa al pasar a un nivel trófico superior en la cadena trófica (Molina *et al.*, 2012).

### **1.5 Toxicidad de los metales pesados en plantas**

Todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran, pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, de las características y contenido de MP en el suelo (Llugany *et al.*, 2007). Para las plantas hay dos tipos de nutrientes que son necesarios para su buen desarrollo, los macronutrientes que son requeridos en grandes concentraciones como el azufre (S), calcio (C), fósforo (P), magnesio (Mg), y nitrógeno (N), y por otro lado se encuentran los micronutrientes que son requeridos en pequeñas cantidades como el boro (B), cloro (Cl), Cu, hierro (Fe), Mn, Mo, y Zn. Se consideran entre los MP a elementos como Ag, Cd, Cu, Cr, Hg, Pb, Zn, entre otros, los que constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos de ellos son esenciales para las plantas como el Cu y Zn, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos (Spain y Alm, 2003; Prieto *et al.*, 2009). También hay MP sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas concentraciones, provoca efectos negativos en el funcionamiento de los órganos de las plantas.

La causa primaria del elevado nivel de toxicidad de los MP en las plantas es debido a que poseen una gran capacidad para unirse con moléculas orgánicas que están presentes en los suelos, las cuales son absorbidas por las raíces de las plantas, dependen de reacciones con ligandos, como las fitoquelatinas, que son esenciales para su asimilación, y estos ligandos están, a su vez, presentes en gran abundancia en las células vegetales. En este sentido, cabe destacar la gran afinidad que muestran los MP como principales ligandos por grupos sulfhidrilo, radicales amino, fosfato, carboxilo e hidroxilo (Navarro *et al.*, 2007).

El resultado de estas uniones ligando-metal, puede ser muy perjudicial para la célula, ya que le provoca diferentes daños como los siguientes:

- **Interacción con grupos funcionales de aminoácidos de proteínas:** algunos MP como el Cu, Cd, Hg y Pb, son fuertemente reactivos con grupos sulfhidrilo, histidil y carboxilatos, presentes en cadenas laterales de aminoácidos de proteínas estructurales y enzimas. Estos grupos son esenciales para mantener la estructura de las proteínas. De manera que, si los grupos funcionales reaccionan con dichos metales, pueden producir oxidación, ocasionando una afectación a la estructura de la proteína (González, 1997).
- **Formación de radicales libres y estrés oxidativo:** las células están expuestas siempre a un pequeño nivel de radicales libres (tóxicos por su fuerte capacidad oxidante), generados por las reacciones de iones metálicos con peróxidos orgánicos e inorgánico. En condiciones normales, los radicales libres son controlados por un sistema antioxidante de sustancias endógenas y exógenas, que transforman los radicales libres en especies menos tóxicas. Sin embargo, cuando los radicales libres aumentan, se produce estrés oxidativo, provocando diversas afectaciones, por ejemplo, la lipoperoxidación, la cual se produce por un exceso de radicales libres, generados por iones metálicos, que reaccionan con los ácidos grasos poli-insaturados de las membranas, alterando las propiedades estructurales y funcionales, perdiéndose la homeostasis celular (González, 1997).
- **Efectos de daño sobre el ADN:** Estos pueden ser alteraciones genotóxicas: mutaciones, aberraciones cromosómicas, alteraciones en la síntesis y reparación de ácidos nucleicos y transformaciones celulares (Navarro *et al.*, 2007).
- **Inhibición de la actividad de enzimas:** algunos MP como el Cd, Hg y Pb, son fuertes inhibidores de diferentes enzimas importantes para el correcto desarrollo de las plantas. Dentro de estas enzimas encontramos a la Glutación-peroxidasa, un activo componente del sistema detoxificador de



substancias precursoras de radicales libres. Otra de las enzimas que se ve inhibida es la nitrato reductasa, la cual se encarga de la absorción de nitratos y del transporte de estos de la raíz al tallo. También los MP afectan la actividad ATPasa de la membrana plasmática, alterando la funcionalidad de esta. Además, se ha visto que los MP generan desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila (González, 1997; Rodríguez *et al.*, 2008).

Otro aspecto importante que hay que considerar es la presencia simultánea (mezcla) de los MP, ya que sus efectos pueden ser tanto sinérgicos (la toxicidad aumenta al mezclarse) o antagónicos (la toxicidad se reduce al mezclarse), por lo tanto, es difícil predecir los efectos de los MP en el medio natural (Mejía, 2011).

### **1.6 Respuestas bioquímicas de las plantas expuestas a metales pesados**

Las plantas han desarrollado distintas estrategias para evitar la toxicidad de MP. En general, la tolerancia a metales está determinada por la reducción del transporte del mismo metal al interior de la célula y/o una mayor capacidad para secuestrar estos metales (Mejía, 2011). La raíz constituye el tejido de entrada principal de MP en la planta, en donde los MP pueden llegar, fundamentalmente, por un proceso de difusión en el medio, mediante un flujo masivo y por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido en gran medida a la presencia de grupos carboxilo del ácido péptico, las cargas negativas de estas células de la rizo-dermis interactúan con las cargas positivas de los MP presentes en el suelo, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular (Navarro *et al.*, 2007).

El primer compartimento celular en contacto con los MP en el espacio del apoplasto es la pared celular, donde los iones se adsorben a las cargas negativas de la misma pared celular y se almacena gran proporción de los MP antes de ser absorbidos por las raíces. El segundo compartimento celular en contacto con los iones metálicos es la membrana plasmática, la cual juega un papel muy

importante en el transporte de los MP al interior de la célula. Los efectos iniciales sobre la membrana citoplasmática dependen de la actividad iónica en la superficie externa de la plasmalema de las células radiculares. La absorción de metales puede disminuir por unión a ácidos orgánicos exudados al suelo, por los ápices radiculares o por los localizados en las paredes celulares, así como por la restricción de su transporte a través de la membrana plasmática (Mejía, 2011).

Una vez que han entrado los metales en la célula, empiezan a funcionar los mecanismos de tolerancia que permiten soportar altas concentraciones de metal en el simplasto y facilitan el almacenamiento de los iones tóxicos en lugares no perjudiciales para las células. Dentro de los mecanismos de tolerancia encontramos los siguientes:

- ❖ **Quelación:** proceso homeostático en el que participan dos tipos de moléculas: (1) moléculas transportadoras, encargadas de transferir iones específicos de metales a organelos particulares como las vacuolas, los cloroplastos y las mitocondrias que los requieran; y (2) los ligandos de alta afinidad como las fitoquelatinas, los ácidos orgánicos, las proteínas y los aminoácidos, los cuales contribuyen a la desintoxicación (González y Zapata, 2008).
- ❖ **Síntesis de ácidos orgánicos:** los ácidos orgánicos, además de inactivar metales en complejos, podrían transportar metales desde el citoplasma a la vacuola, donde el ácido sería devuelto al citoplasma y el metal retenido en complejos inactivos (González, 1997).
- ❖ **Compartimentalización:** proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola (Navarro *et al.*, 2007).
- ❖ **Fitoquelatinas (FQs):** el mecanismo de acción de las FQs consiste en la formación de complejos no tóxicos con iones de metales mediante la interacción con los grupos tioles de cisteína, formando un complejo FQ-metal, el cual se une a iones sulfuro en el citosol. Posteriormente, estas moléculas atraviesan el tonoplasto y una vez dentro de las vacuolas, los

ácidos orgánicos presentes (malato, citrato, oxalato) retienen a los iones de los metales y disocian el complejo FQ-metal (González y Zapata, 2008).

- ❖ **Mecanismos de reparación celular:** son los mecanismos que, en respuesta al deterioro sufrido, restablecen las características iniciales de la planta, que actúan como protección y reparación de proteínas (Navarro *et al.*, 2007).

Debido a que algunas plantas han desarrollado diferentes respuestas como las mencionadas anteriormente, han logrado establecerse en estos sitios contaminados por MP, de ahí la importancia de utilizarlas en procesos de biorremediación y fitorremediación de suelos contaminados con MP.

### **1.7 Biorremediación y fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados**

El concepto de biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, entre otros), para remover (extraer), degradar (biodegradar) o transformar (biotransformar) compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos o inócuos (Velasco y Volke, 2003).

Dentro de la biorremediación encontramos a la fitorremediación, la cual se basa en el uso conjunto de plantas y/o técnicas agronómicas para eliminar, retener o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo. Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas ya que no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo se aplican prácticas agrícolas comunes; además, el proceso se realiza '*in situ*' evitando costos de transporte (Carpena y Bernal, 2007).

La fitorremediación se divide en varios tipos (Figura 1), dependiendo de los tipos de contaminantes a remediar, entre los que se distinguen los siguientes (López *et al.*, 2005):

- Fito-extracción: también llamada Fito-acumulación, está basada en la capacidad de algunas plantas para bioacumular contaminantes en sus raíces, tallos o follaje, principalmente en el follaje.
- Fito-estabilización: es el uso de ciertas especies y/o enmiendas para inmovilizar los contaminantes a través de la bioacumulación de la raíz, este proceso reduce la movilidad del contaminante y evita la migración al agua o el aire y reduce la biodisponibilidad del contaminante.
- Fito-degradación o rizo-degradación: consiste en la transformación de los contaminantes orgánicos en moléculas más simples.
- Fito-volatilización: consiste en la absorción y transpiración de un contaminante por la planta, los contaminantes son absorbidos, metabolizados y transportados desde la raíz a las partes superiores, donde se liberan a la atmósfera en formas volátiles menos tóxicas.



**Figura 1.** Tipos de fitorremediación.

Dentro de los tipos de fitorremediación mencionados anteriormente, la fitoextracción y fitoestabilización son las dos opciones más utilizadas en cuanto a la remediación de MP. En suelos con contaminación polimetálica la técnica que presenta más ventajas y un menor riesgo ambiental, ya que reduce el transporte de los contaminantes del suelo, agua o aire, es la fitoestabilización (Abreu y Magalhães, 2009). Esta técnica se utiliza para reducir la movilidad y la biodisponibilidad de los contaminantes en el medio ambiente, evitando así su migración al agua subterránea (lixiviación) o su entrada en la cadena alimentaria (Erakhrumen, 2007). La fitoestabilización ocurre de manera natural en las plantas

que colonizan áreas degradadas, como los sitios contaminados por metales. Sin embargo, debido a las características adversas de los suelos (falta de nutrientes, elevado contenido de MP, acidez, entre otros), el desarrollo y colonización de las especies vegetales es difícil, ocasionando que la mayoría de las plantas tengan un crecimiento lento y una baja producción de biomasa (Aran, 2017).

El método que se busca para la remediación de suelos contaminados por MP sería aquel que trate de estabilizar los contaminantes de una forma efectiva, barata y sin afectar las propiedades de suelo (Cabrera, 2005). Por lo tanto, para tener una buena fitorremediación de suelos contaminados con MP, es necesaria la combinación con otras técnicas, como la aplicación de enmiendas que ayuden a las plantas en su desarrollo y supervivencia en estos sitios contaminados (Santos *et al.*, 2014). La fitoestabilización en conjunto con otras enmiendas son técnicas prometedoras y de bajo impacto, ya que la adición de enmiendas al suelo y el establecimiento de plantas dan un enfoque más natural y amigable con el medio ambiente, en comparación con otros métodos de remediación de suelos contaminados por MP (Cabrera, 2005).

### **1.8 Estabilización química**

Una de las formas para estabilizar MP consiste en agregar enmiendas orgánicas e inorgánicas al suelo para que interaccionen con los MP formando compuestos altamente insolubles o absorbiéndolos, de tal manera que no estén biodisponibles para las plantas, animales y humanos, esta técnica se conoce como estabilización química (Valles y Alarcón, 2008). Las enmiendas incluyen materiales como algunos fertilizantes, óxidos de hierro y manganeso, materia orgánica, composta, estiércol, minerales naturales, entre otros (Pérez *et al.*, 2008). El uso de enmiendas contribuye con diversos efectos positivos sobre los suelos, entre las que destacan, el incremento en el contenido de nutrientes, así como la retención y/o inmovilización de contaminantes como los MP (Xu *et al.*, 2013). En los últimos años, se ha prestado gran interés en la aplicación de biocarbón como enmienda orgánica a suelos contaminados por MP debido a las interacciones y absorción

que éste presenta sobre los MP minimizando su biodisponibilidad (Puga *et al.*, 2015).

### **1.9 Biocarbón como enmienda orgánica para la captación de metales**

Una alternativa al empleo de enmiendas es la aplicación de éstas para la retención o inmovilización de contaminantes (Aran, 2017). Dentro de las enmiendas más utilizadas, el biocarbón es una alternativa para hacer más eficiente el proceso de fitorremediación (fitoestabilización) (Santos *et al.*, 2014).

El biocarbón es un material rico en carbono que se obtienen a partir de la degradación térmica en ausencia de oxígeno (pirólisis) de distintos materiales orgánicos, por ejemplo, astillas de madera, estiércol animal y residuos de cultivos, entre otros. Los biocarbones se caracterizan por presentar una alta porosidad, elevada superficie específica y una densidad alta de grupos funcionales reactivos (Tang *et al.*, 2013). Se han descrito diversas ventajas que ofrece el biocarbón al utilizarse como enmienda, por ejemplo, capacidad de mejorar la eficiencia del uso de fertilizantes y la producción de cultivos (Huang *et al.*, 2018), ayuda a mitigar las emisiones de efecto invernadero (dióxido de carbono y óxido nitroso) (Lu *et al.*, 2014) y presenta un elevado potencial para la recuperación de suelos contaminados, ya que puede reducir la biodisponibilidad de MP. (Aran, 2017). Entre los principales mecanismos de reacción o interacción de los biocarbones con los MP, están las interacciones electrostáticas, intercambio iónico, precipitación o co-precipitación superficial y la adsorción (Xu *et al.*, 2013; Puga *et al.*, 2015). Una característica específica del biocarbón es que su producción trata de ser sustentable y de reducir gastos de producción, para que pueda ser rentable para la aplicación en la remediación de suelos contaminados con MP (Soria, 2016).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Estudios en Huautla, Morelos sobre la bioacumulación de metales pesados en especies vegetales acumuladoras

En el municipio de Tlaquiltenango, Morelos, específicamente en el poblado de Huautla, durante los siglos XVIII y XIX se explotaron las minas: San Francisco, Santa Ana, Plomosa, Reforma, Ánimas y San Esteban (Velasco *et al.*, 2004). Durante los años 50, la compañía “Exploradora de Minas, S.A.” explotó las minas de Tlalchichilpa, Santiago, Peregrina y Nueva Peregrinacuatro. Posteriormente, entre 1976 y 1988, la empresa “Rosario de México, S.A.” obtuvo una producción entre 140 y 190 toneladas Ag, Pb y Zn diarias (Velasco *et al.*, 2004). En la actualidad esta zona se encuentra inactiva, debido a la caída del precio de la plata en 1992; posteriormente, en 1999 se decretó a la Sierra de Huautla como área natural protegida federal (Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla) (Velasco *et al.*, 2004; Dorado *et al.*, 2005).

En la región de Huautla, existen alrededor de 780 mil toneladas de jales abandonados ricos en MP como As, Cd y Pb. Estos residuos se encuentran a la intemperie y al borde de un arroyo de temporal (Arroyo Chico), el cual se une con los arroyos Juchitán, Salitre y Atlipa, para formar el Arroyo Grande que desemboca en el Río Amacuzac. Debido a lo anterior, existe una gran posibilidad que, durante la temporada de lluvias, estos metales se lixivien hacia los cuerpos de agua cercanos y, por lo tanto, se transporten hacia otras regiones (Velasco *et al.*, 2004). De acuerdo con lo reportado por SEMARNAT (2004, 2005), los jales de Huautla contienen elevadas concentraciones de Pb (hasta 3,340 mg/Kg) y As (hasta 274 mg/Kg) rebasando los límites máximos permisibles de la Norma Oficial Mexicana-147-SSA1-2004 que establece, para As (22 mg/Kg de suelo residencial y 260 mg/Kg para suelo industrial) y para Pb (200 mg/Kg en suelo residencial y 800 mg/Kg para suelo industrial). Además de las elevadas concentraciones de Pb y As, los jales de Huautla contienen otros metales como Cr, Cd, Cu y Zn, estos metales se encuentran biodisponibles, lo que facilita su bioacumulación en la biota circundante, provocando afectaciones en diferentes niveles de organización biológica (Mussali-Galante *et al.*, 2013). En un estudio realizado por Solís (2016),

reporta los porcentajes de biodisponibilidad de los metales en los jales de Huautla, siguiendo el siguiente orden: Cu>Pb>Zn>Mn>Cd>Fe.

En los jales de Huautla, Morelos se han realizado diversos estudios con especies animales y vegetales. Dentro de los trabajos con especies vegetales, se menciona que algunas plantas pueden bioacumular MP en sus estructuras, las cuales podrían utilizarse en procesos de fitorremediación, así también se mencionan los diferentes efectos negativos que producen los MP al ser bioacumulados por las plantas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Estudios realizados en la localidad de Huautla, Morelos con especies vegetales dominantes y acumuladoras de metales pesados.

<b>Especie de estudio</b>	<b>Bioacumulación de Metales</b>	<b>Resultados</b>	<b>Autor y año</b>
<i>Sanvitalia procumbens</i>	Fe, Pb, Zn y Cd	*Mayor bioacumulación de metales en raíz que en tejido foliar. *Reducción de caracteres morfológicos y clorofila en individuos provenientes de sitio testigo y expuesto.	Rosas, 2018
<i>Prosopis laevigata</i>	Pb, Cu y Zn	*Reducción de caracteres morfológicos en individuos expuestos a MP. *Mayor daño genético en individuos expuestos a MP.	Hernández, 2014 Murillo, 2015
		*No hubo diferencias en diversidad genética en individuos expuestos a MP con respecto a los testigos	Fuentes, 2017
<i>Prosopis laevigata</i>	Fe, Pb, Zn y Cu	*Mayor bioacumulación de metales en tejido foliar que en raíz. *Mayor daño genético en plantas expuestas. *Menor No. De hojas en plantas expuestas. *Reducción en el contenido de clorofila en plantas expuestas. *Capacidad fitorremediadora de Fe, Zn, Cu y Pb.	Muro <i>et al.</i> , 2020
<i>Vachellia farnesiana</i>	Cr, Cu, Fe, Pb y Zn	*Reducción de los caracteres macro-morfológicos de los individuos expuestos. *Menor biomasa de hojas frescas y secas en individuos expuestos. *Capacidad fitorremediadora de Pb, Cr y Cu.	Santoyo <i>et al.</i> , 2020
<i>Pithecellobium dulce</i>	Pb, Cu y Zn	Mayor daño genético y una reducción en caracteres morfológicos en individuos expuestos.	Castañeda, 2016
Hierro (Fe), Cromo (Cr), Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Metales Pesados (MP)			



En la tabla 1, se describen algunas especies vegetales que habitan en los jales de Huautla, las cuales pueden bioacumular MP como Fe, Cd, Cr, Cu, Pb y Zn en tejido de raíz y hoja, además se muestra un patrón de reducción en los caracteres morfológicos y un aumento significativo sobre el daño genético en individuos asociados a los jales con respecto a los individuos del sitio testigo.

En un estudio realizado por Martínez (2009), donde evaluó la riqueza y diversidad de especies vegetales asociadas a los jales de Huautla, reportando una disminución en su riqueza y diversidad con respecto a un sitio testigo, encontrando 19 especies contenidas en 10 familias en los jales, en contraste en el sitio testigo se reportaron 78 especies contenidas en 27 familias. Dentro de las especies vegetales que se reportaron asociadas a los jales, se encuentra *Sanvitalia procumbens* y *Crotalaria pumila*. Ambas especies son herbáceas, perteneciendo la primera a la familia Asteraceae y la segunda a la familia Fabaceae.

## **2.2 *Sanvitalia procumbens* como especie para fitorremediar suelos contaminados con metales pesados**

Se ha reportado que *S. procumbens* puede bioacumular diferentes MP como Pb, Zn y Cd. Cho-Ruk *et al.* (2006) analizaron la bioacumulación de Pb (75 mg/Kg) en tres especies vegetales en condiciones de invernadero. Una de estas especies fue *S. procumbens*, que fue la segunda en acumular mayor concentración de Pb en todo el tejido vegetal con 12.33 mg/Kg, absorbiendo un 16.44% de Pb total del suelo. Asimismo, González y González (2006) analizaron la bioacumulación especies vegetales asociadas a jales de Zacatecas contaminados con Ni, Pb, Cu, Zn y Cd, entre las especies encontradas estaba *S. procumbens*, la cual bioacumuló 71 mg/Kg de Pb y 400 mg/Kg de Zn en tejido de raíz de la planta. También, Shi *et al.* (2016), realizaron un estudio con 18 especies vegetales (entre ellas *S. procumbens*), para ver la bioacumulación y crecimiento de respuesta frente al Cd a diferentes concentraciones (2 y 10 mg/Kg de Cd) en condiciones de invernadero, encontrando que las 18 especies bioacumulan diferentes cantidades

de Cd, estos autores clasificaron a *S. procumbens* entre las especies de indicadoras a acumuladoras de Cd.

En otro estudio, Del Pilar Ortega *et al.* (2010) evaluaron la riqueza de especies vegetales asociada a cinco sitios de desecho de minas en Zimapán, Hidalgo (2 sitios de repoblación forestal inducida por los habitantes y 3 sitios de sucesión vegetal natural), encontrando a *S. procumbens* como una de las pocas especies que estaba en más de 1 sitio (2 sitios, en un sitio de repoblación forestal inducida por el hombre y en un sitio de sucesión vegetal natural), siendo la familia Asteraceae, la más representada con 11 especies de un total de 66.

### **2.3 *Crotalaria pumila* como especie para ser utilizada en procesos de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados**

Se ha reportado que *C. pumila* crece y puede acumular diferentes metales en sus estructuras. En un estudio realizado por Noguez *et al.* (2017) observaron que *C. pumila* fue una de dos especies pioneras en establecerse en sitios contaminados por residuos mineros, mencionando que es difícil que las plantas se establezcan en sitios contaminados debido a las condiciones desfavorables que presentan, por lo que, sólo algunas especies son capaces de crecer y desarrollarse en estas condiciones, sin embargo *C. pumila* es una especie que puede crecer y desarrollarse en estos sitios. En otro estudio realizado por Sánchez *et al.* (2017) evaluaron el potencial de diferentes especies vegetales silvestres en la remediación de 2 sitios contaminados por MP (Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn) que se encuentran en Zimapán, Hidalgo, los autores reportan 12 especies vegetales que crecen en esta zona contaminada, entre las que se encuentra *C. pumila*, la cual reportaron como fitoextractora de Zn, bioacumulando mayor concentración en tejido aéreo con respecto a la raíz, así mismo se reportó que bioacumuló otros metales como Cd, Cu y Pb en la raíz y tejido foliar.

#### **2.4 Biocarbón como enmienda para la fitoestabilización de metales pesados**

Diversos estudios han evaluado la utilización de biocarbón como enmienda para la fitoestabilización de suelos contaminados con MP. Dentro de estos estudios encontramos el realizado por Lu *et al.* (2017) donde analizaron los efectos de dos biocarbones obtenidos a partir de bambú y paja de arroz, los cuales fueron adicionados a un suelo contaminado con Cd, Cu, Pb y Zn, reportando que la aplicación de biocarbón redujo significativamente la concentración de los metales mencionados anteriormente del suelo, en comparación con el tratamiento testigo (sin biocarbón). La tasa de aplicación de biocarbón al 5%, dio como resultado una mayor extracción de MP con respecto a la aplicación de 1% de biocarbón. Asimismo, el biocarbón obtenido de la paja de arroz, fue más efectivo para reducir las concentraciones de MP que el biocarbón de bambú. De igual manera, Puga *et al.* (2015) evaluaron si el biocarbón obtenido a partir de caña de azúcar podría reducir la movilidad de MP y mejorar el crecimiento en plantas (*Canavalia ensiformis* y *Mucuna aterrima*) cultivadas en un suelo minero contaminado con (Cd, Pb y Zn). Los resultados obtenidos reportan que el biocarbón provocó una reducción de los MP biodisponibles en el suelo, con un 54% para Cd, 50% para Pb y 57% para Zn en la aplicación más alta de biocarbón, la cual fue de un 5%. Por otra parte, Nawad *et al.* (2018) analizaron la influencia en la aplicación de enmiendas orgánicas (biocarbón, turba de musgo y estiércol de granja) a diferentes dosis de aplicación (1%, 2% y 5%) en suelos agrícolas afectados por minería en plantas de chile (*Capsicum annum*) y chícharo (*Pisum sativum*). Los resultados mostraron que los suelos modificados con biocarbón al 5% disminuyeron eficientemente la concentración biodisponible de metales (As, Cd, Cr, Ni, Pb y Zn) en comparación con la turba de musgo, el estiércol de granja y el testigo. Por otra parte, Chen *et al.* (2018) realizaron un metaanálisis de los efectos que tiene el biocarbón en la biodisponibilidad de MP en el suelo y su absorción en plantas. En total, de los 74 artículos científicos analizados, se reportó que el biocarbón redujo las concentraciones promedio de MP en el tejido vegetal en comparación con las plantas cultivadas en suelos sin biocarbón. Además, reportaron que las concentraciones medias de Cd, Cu, Pb y Zn en los tejidos

vegetales disminuyeron en un 38, 39, 25 y 17% respectivamente, cuando las plantas fueron crecidas en suelo con agregación de biocarbón.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que la actividad minera genera gran cantidad de residuos mineros que contienen elementos potencialmente tóxicos como los metales pesados, y en la mayoría de los casos, estos residuos no tienen ningún tipo de tratamiento, como el caso de Huautla, Morelos donde se han documentado efectos negativos sobre la biota circundante derivado de la exposición ambiental a metales. Es necesario contar con técnicas efectivas de fitorremediación para mitigar el efecto de los metales sobre el ambiente. En este trabajo se propone utilizar biocarbón como enmienda orgánica, el cual se ha descrito como un agente efectivo para inmovilizar metales pesados, para incrementar el rendimiento de fitoestabilización de metales pesados de los jales de Huautla, Morelos.

### **4. HIPÓTESIS**

Si los jales de Huautla, Morelos contienen metales pesados biodisponibles, los cuales son bioacumulados por diferentes especies vegetales, entonces se espera que al agregar biocarbón como enmienda orgánica al sustrato jale, disminuya dicha biodisponibilidad, es decir, que las especies vegetales (*Sanvitalia procumbens* y *Crotalaria pumila*) bioacumulen menores concentraciones de metales pesados conforme se aumenta la proporción de biocarbón en el sustrato jale. Así mismo se espera que ambas especies vegetales al crecer en sustrato jale con diferentes proporciones de biocarbón, produzcan mayor biomasa que las plantas crecidas solo en sustrato jale.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Evaluar la fitoestabilización de jales contaminados con metales pesados utilizando biocarbón incorporado al sustrato jale con las especies vegetales *Sanvitalia procumbens* y *Crotalaria pumila* en condiciones de invernadero.

### 5.2 Objetivos particulares

1. Evaluar la biomasa de los individuos de *S. procumbens* y *C. pumila* crecidos en sustrato jale con diferentes proporciones de biocarbón.
2. Determinar la concentración de metales pesados (Cd, Cu, Fe, Pb y Zn) en tejido de raíz y foliar de los individuos de *S. procumbens* y *C. pumila* crecidos en sustrato jale con diferentes proporciones de biocarbón.
3. Determinar el análisis fisicoquímico del biocarbón proveniente de la cáscara de coco.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Especies de estudio

*Sanvitalia procumbens* Lam (Figura 2) es una planta perteneciente a la familia Asteraceae, se le conoce generalmente con otros nombres como: ojo de gallina, ojo de pollo, entre otros. Originaria de México y Centroamérica, es una hierba anual (florece de junio a noviembre) puede ser rastrera o erguida, llegando a formas de matas, puede alcanzar una altura máxima de 50 cm, con una anchura de 75 a 100 cm. Presenta un tallo generalmente ramificado, liso o estriado, pubescentes. Sus hojas son alargadas de hasta 5 cm. Sus flores son amarillo-anaranjado con el centro de color púrpura-marrón oscuro, parecidas a las del girasol (CONABIO, 2009).

Esta especie prefiere un suelo arenoso y ligero con un buen drenaje, moderadamente húmedo. Tiene una resistencia leve a heladas. Crece expuesta al

sol, pero también puede crecer a la sombra. Planta cultivada en huertos familiares, crece a orilla de caminos, en terrenos de cultivo abandonados, zonas urbanas o en sitios con vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino. Puede usarse como planta ornamental, crecida en macetas o cestas colgantes. Tiene una importancia en la apicultura, ya que es productora de néctar, su principal polinizador son las abejas, por lo que estas, pueden ser un medio para la dispersión del polen, junto con el viento y la lluvia (SAGAR, 2010).



**Figura 2.** *Sanvitalia procumbens* Lam en los jales de Huautla, Morelos

Pruebas *in vitro*, confirman la actividad amebicida del ojo de gallina, por lo que su uso tradicional para tratar problemas de diarrea y disentería ha sido confirmado con evidencias científicas (Martínez, 2013).

Por otro lado, tenemos a *Crotalaria pumila* Ort (Figura 3), perteneciente a la familia Fabaceae. Esta leguminosa nativa de las orillas de parcelas y caminos, y arvense de milpas, se encuentra distribuida desde sur de Estados Unidos hasta Sudamérica, es una hierba erguida, ramificada, de 30 a 50 cm de altura, su tallo

está cubierto por pelos rectos, a simple vista parece no tener pelos, sus hojas son trifolioladas con flores dispuestas en racimos y estos con pocas flores, sus flores miden 1 cm de largo, el fruto es una legumbre inflada, oblonga, de 15 mm de largo por 8 mm de diámetro, con semillas asimétricamente reniforme, de 1.5 a 2.6 mm de largo y 1.7 a 2.8 mm de ancho. Las plántulas tienen hipocótilo cilíndrico de hasta 27 mm de largo; cotiledones de lámina elíptica de 8 a 9 mm de largo y 4.5 a 5 mm de ancho; epicótilo 10 a 13 mm de largo, con pelos; hojas alternas, compuestas (Espinosa y Sarukhán, 1997; Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Esta especie crece en sitios con vegetación de pastizal, orillas de canales y lotes baldíos, en selva tropical caducifolia, pero también en bosque de pino-encino y bosque tropical perennifolio, es común en suelos húmedos. Su ciclo de vida es anual o perenne de vida corta, florece y fructifica de mayo a diciembre. Tiene un uso principalmente comestible y su cultivo se promueve con fines de autoconsumo, aunque se comercializa de manera regional (Maldonado, 1997; CONABIO, 2009).

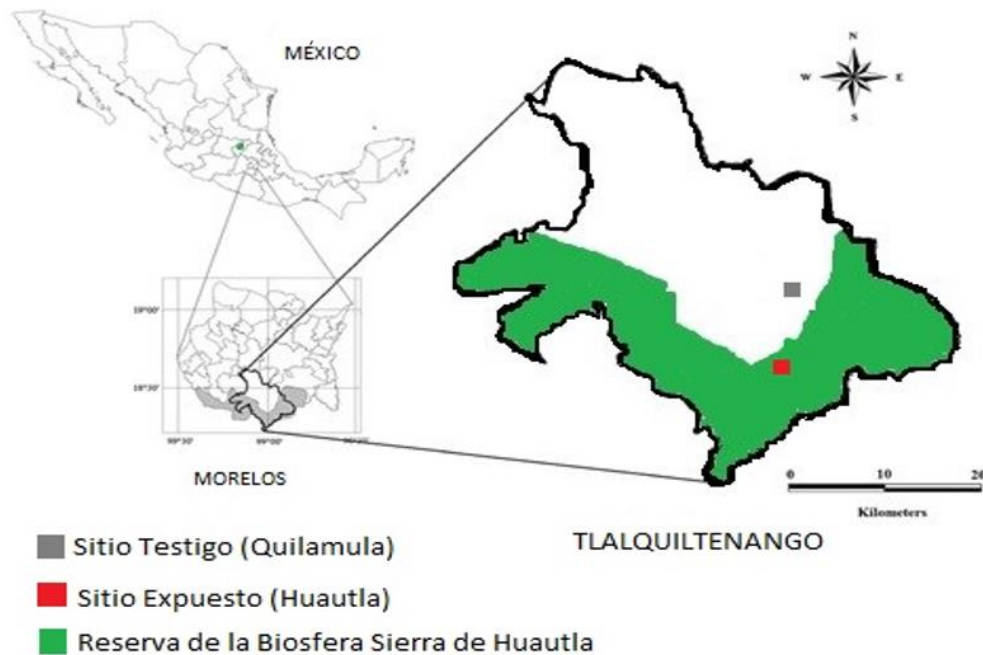


**Figura 3:** *Crotalaria pumila* Ort

## 6.2 Sitios de estudio

### 6.2.1 Sitio Expuesto

El sitio expuesto (Figura 4) se localiza en el poblado de Huautla, que pertenece al municipio de Tlaquiltenango, Morelos. En este sitio existen lugares contaminados (jales) derivados de la actividad minera que existió, los cuales se encuentran dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla. Este sitio presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano y una precipitación media anual de 900 mm, la temperatura media anual supera los 22°C, siendo el bosque tropical caducifolio la vegetación predominante en los sitios, los cuales se caracteriza por presentar una marcada estacionalidad donde los árboles no superan los 15 m de altura y pierden las hojas en la temporada seca (Dorado *et al.*, 2005; Rzedowski, 2006).



**Figura 4.** Mapa de los sitios de estudio

En estos sitios se explotaron principalmente Pb, Zn y As que, durante el proceso de extracción, se generaron por décadas residuos provenientes de esta actividad, formando jales. El jale 1 se encuentra a 18°26'36.37"N-99°01'26.71"O localizado a



500 m del poblado, mientras que el jale 2 se localiza a  $18^{\circ}26'22.62''\text{N}$ - $99^{\circ}01'51.71''\text{O}$  y se encuentra a 1,000 m del poblado.

### **6.2.2 Sitio Testigo**

Este sitio (Figura 4) se localiza en el poblado de Quilamula, en el municipio de Tlaquiltenango, Morelos, en las coordenadas  $18^{\circ}30'52''\text{N}$  y  $98^{\circ}59'59''\text{O}$ , presenta una altitud de 1,100 msnm. Se estableció este sitio ya que presenta condiciones geográficas y climáticas, y tipo de vegetación similar a las del poblado de Huautla, con la diferencia de que en estos sitios no hay actividad minera, ni posee residuos provenientes de esta actividad.

### **6.3 Identificación y colecta de semillas de las especies de estudio**

Para la identificación de la especie, se contó con apoyo de fotografías y ejemplares que se encuentran en el herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) de la UAEM.

Se colectaron semillas del sitio testigo (Quilamula), ya que de acuerdo con el trabajo de Rosas (2018), estas semillas bioacumulan mayor concentración de MP que las semillas del sitio expuesto (jales).

La colecta de semillas se realizó siguiendo el protocolo de Gold *et al.* (2004), quien sugiere coleccionar semillas de al menos 50 plantas distribuidas al azar, para tomar la mayor parte de la diversidad genética de la población colectada y que esté representada en la muestra. Una vez colectadas las semillas en bolsas de papel estraza, se etiquetaron y se transportaron al Laboratorio de Investigaciones Ambientales (LIA) del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) de la UAEM.

#### **6.4 Colecta de sustrato del sitio expuesto**

Se colectó aproximadamente 200 Kg de sustrato tanto del jale 1 como del jale 2 (estos dos jales son lo que más se han estudiado debido a su localización cercana al poblado) a una profundidad de 0 a 30 cm, con una pala de acero inoxidable para evitar cualquier tipo de contaminación. El sustrato fue colocado en costales para su posterior traslado al invernadero del CIByC, UAEM. El sustrato se homogeneizó con ambas muestras, tanto del jale 1 como del jale 2 con el propósito de que esté mejor representado el sustrato de los jales que se encuentran en esta región.

#### **6.5 Germinación de semillas**

Las semillas primero se germinaron en charolas de germinación con sustrato Peat Moss, posteriormente se esperaron 15 días para el trasplante a macetas de 1 Kg, las cuales se llenaron con diferentes proporciones de jale y de biocarbón, teniendo cuatro tratamientos, para la especie *Crotalaria pumila* fueron: 1) 100% de jale, 2) 87.5% de jale y 12.5% de biocarbón, 3) 75% de jale y 25% de biocarbón y 4) 50% de jale y 50% de biocarbón, y para la especie *Sanvitalia procumbens* fueron: 1): 100% de jale, 2): 93.75% de jale y 6.25% de biocarbón, 3): 87.5% de jale y 12.5% de biocarbón y 4): 75% de jale y 25% de biocarbón. En cada tratamiento se obtuvo 36 plantas, por lo que se obtuvo un total de 144 plantas por los cuatro tratamientos, cada mes (30 días) se realizó un corte de seis plantas por tratamiento, lo que nos dio un total de 24 plantas que fueron sacrificadas en cada corte. Los cortes se realizaron durante 5-6 meses, que es lo que aproximadamente dura el ciclo de vida de estas especies vegetales.

#### **6.6 Producción de Biocarbón**

Se realizó la producción de biocarbón (Figura 5), la cual se llevó a cabo en las instalaciones de la planta de gasificación de la Universidad Nacional Autónoma de México, SAGARPA. La fuente que se utilizó para la producción de biocarbón fue la materia orgánica de cáscara de coco. La temperatura en la que se realizó la

pirolisis fue a 600°C. Una vez obtenido el biocarbón, se enfrió con agua de llave, y posterior al enfriamiento, se colocó en costales para su traslado al invernadero del CIByC de la UAEM. Posteriormente, se puso a secar a temperatura ambiente por una semana y se procedió a romperlo en fragmentos pequeños para llevar a cabo el llenado de las macetas con las proporciones antes mencionadas de jale y biocarbón.



**Figura 5.** Producción de biocarbón instalaciones de la planta de gasificación de la Universidad Nacional Autónoma de México, SAGARPA

### **6.7 Medición de metales pesados en raíz y tejido foliar**

En cada corte se midió la bioacumulación de MP (Cd, Cu, Fe, Pb y Zn) en raíz y tejido foliar de la siguiente manera:

Una vez realizado el corte, las raíces y el tejido foliar se pusieron en una estufa a 60°C por 48 horas para su secado hasta obtener un peso constante, posteriormente se tomaron 0.25 g de cada una de las muestras (raíz y tejido foliar) y se le adicionaron 10 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) para la digestión ácida en el digestor de microondas EPA-3051 o por digestión manual en campana de extracción. Una vez realizada la digestión, cada muestra se dejó enfriar y se filtró

en matraces aforados de 50 mL, se aforaron con agua destilada y por último se realizó la lectura de las muestras en el espectrofotómetro de absorción atómica (GBC-908-AA, Cientific Equipment), las muestras se realizaron por triplicado. Los metales analizados y las condiciones analíticas de medición se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Condiciones analíticas de medición del espectrofotómetro de absorción atómica (Manual de uso del espectrofotómetro de absorción atómica, GBC CIENTIFIC EQUIPMENT)

Metal	L. D. (mg/l)	Longitud de Onda (nm)	Rango de Trabajo Optimo (µg/ml)	Sensibilidad (µg/ml)
Cd	0.0004	228.8	0.2-1.8	0.009
Cu	0.001	324.7	1-5	0.025
Fe	0.005	248.3	2-9	0.05
Pb	0.01	217.0	2.5-20	0.06
Zn	0.0005	213.9	0.4-1.5	0.008

L.D.= Limite detectable, Cd= Cadmio, Cu= Cobre, Fe= Hierro, Pb= Plomo y Zn= Zinc

### 6.8 Medición de biomasa

En cada corte, se midió la biomasa tanto de raíz como de tejido foliar. La obtención de los pesos frescos de tejido de raíz y tejido foliar se realizó inmediatamente realizado el corte, se pesaron en una balanza analítica, posteriormente, el tejido de raíz y foliar se colocaron en una estufa a 60°C por 48 horas y posteriormente se pesaron para la obtención de peso seco.

### 6.9 Análisis fisicoquímico del biocarbón.

El análisis fisicoquímico del biocarbón se realizó mediante lo señalado en la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación suelos. Estudios, muestreo y análisis. Debido a que no hay una norma para el análisis del biocarbón se tomó el sustrato de biocarbón como suelo. Los parámetros que se midieron fueron, pH, porcentaje de materia orgánica, nitrógeno total, fósforo total y carbono.

### 6.9.1 pH

El pH es una medida de la acidez o basicidad de una solución y es la concentración de iones o cationes hidrógeno ( $H^+$ ) presentes en una determinada sustancia. El grado de acidez o alcalinidad de un suelo, se expresa en términos de la escala de pH, de 0 a 14. El pH se midió por el método electrométrico, que se basa en la determinación de la actividad de ion H mediante el uso un electrodo cuya membrana es sensitiva al  $H^+$ . (NOM-021-SEMARNAT-2000).

El pH es una de las medidas más comunes e importantes de los análisis químicos rutinarios del suelo, ya que controla reacciones químicas y biológicas en el suelo. La determinación del pH se llevó a cabo de la siguiente manera: el potenciómetro se calibró mediante el uso de los buffers de pH 4, 7 y 10, después se midió en una suspensión de biocarbón: agua 1:5, esto quiere decir, se tomaron 10 g de biocarbón y se colocaron en vasos precipitados, esto se realizó por triplicado. Se adicionaron 50 ml de agua destilada, se taparon y se sometieron a agitación por 30 minutos para posteriormente medirse las muestras en el potenciómetro (Ortiz *et al.*, 1993). Los resultados obtenidos fueron clasificados según la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 3).

**Tabla 3.** Clasificación de pH de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	< 5
Moderadamente ácido	5.1 – 6.5
Neutro	6.6 – 7.3
Medianamente alcalino	7.4– 8.5
Fuertemente alcalino	> 8.5

### 6.9.2 Materia orgánica

La materia orgánica (M.O.) del suelo se define como la fracción del suelo que incluye residuos vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células que viven en el suelo y sustancias producidas por los mismos. El fraccionamiento de la M.O. del suelo puede proveer información sobre el ciclado

de diferentes materiales orgánicos y sus características funcionales y estructurales (Ortiz *et al.*, 1993).

La determinación de la M.O. se evaluó a través del contenido de carbono orgánico con el método de Walkley y Black. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. Después de un cierto tiempo de espera la mezcla se diluye, se adiciona ácido fosfórico para evitar interferencias de  $Fe^{3+}$  y el dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso. Con este procedimiento se detecta entre un 70 y 84% del carbón orgánico total por lo que es necesario introducir un factor de corrección, el cual puede variar entre suelo y suelo. En suelos de México se recomienda utilizar el factor 1.298 (1/0.77) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000. Los resultados fueron obtenidos clasificados de acuerdo con los valores de referencia de la norma antes mencionada (Tabla 4).

**Tabla 4.** Valores de referencia para clasificar la concentración de MO (NOM-021-SEMARNAT-2000).

Clase	Materia orgánica (%)	Suelos no volcánicos
	Suelos volcánicos	
Muy bajo	< 4.0	< 0.5
Bajo	4.1 – 6.0	0.6 – 1.5
Medio	6.1 – 10.9	1.6 – 3.5
Alto	11.0 – 16.0	3.6 – 6.0
Muy alto	> 16.1	> 6.0

### 6.9.3 Nitrógeno total

El crecimiento de las plantas está limitado en mayor proporción por el contenido de nitrógeno del suelo donde crecen, que por otros elementos. El nitrógeno total se evaluó mediante el procedimiento de Kjeldahl, el cual se basa en una digestión para convertir el nitrógeno orgánico a  $NH_4^+$ , por ebullición del suelo con ácido sulfúrico, y de una destilación de la digestión con una base concentrada para determinar el amonio a partir de la cantidad de amoniaco liberado en este proceso

(Ortiz *et al.*, 1993). Los resultados obtenidos fueron clasificados de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 5).

**Tabla 5.** Valores de referencia para clasificar el nitrógeno de suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000).

Clase	Nitrógeno en el suelo mg/Kg <sup>-1</sup>
Muy bajo	0 – 10
Bajo	10 – 20
Medio	20 – 40
Alto	40 – 60
Muy alto	> 60

#### 6.9.4 Fósforo

El fósforo es un constituyente esencial en toda célula viviente, donde participa con los ácidos nucleicos para propósitos de reproducción, con los compuestos estructurales y con la conservación y transformación de la energía de las reacciones metabólicas que se llevan a cabo (Ortiz *et al.*, 1993). La determinación del fósforo se realizó mediante el procedimiento de Olsen. Este método consiste en una solución de NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M ajustada a un pH de 8.5. Posteriormente se realizó la determinación cuantitativa del elemento en esa solución. Los resultados obtenidos fueron clasificados según la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 6).

**Tabla 6.** Valores de referencia para clasificar el fósforo de suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000).

Clase	mg/Kg <sup>-1</sup> de P
Bajo	< 5.5
Medio	5.5 - 11
Alto	> 11

#### 6.10 Análisis estadísticos

Mediante los procesos de medición descritos anteriormente, se obtuvieron los datos de pesos frescos y secos de raíz y hojas de *C. pumila* y *S. procumbens*, así como de la bioacumulación de metales pesados en dichos órganos.

Los datos se sometieron a pruebas para verificar su normalidad (Shapiro Wilks) y homogeneidad de varianzas (Levene) con el fin de seleccionar las pruebas pertinentes (ANOVA y Tukey o Kruskal Wallis y Steel Dwass) para identificar si existen diferencias significativas: a) entre los tratamientos propuestos: jale, jale con 12.5% de biocarbón, jale con 25% de biocarbón y jale con 50% de biocarbón; y b) entre los cortes que se realizaron mensualmente durante 5 meses.

Los análisis se llevaron a cabo mediante el programa STATISTICA 7.0 (Dell y StatSoft).

## 7. Resultados

### 7.1 Pruebas de germinación

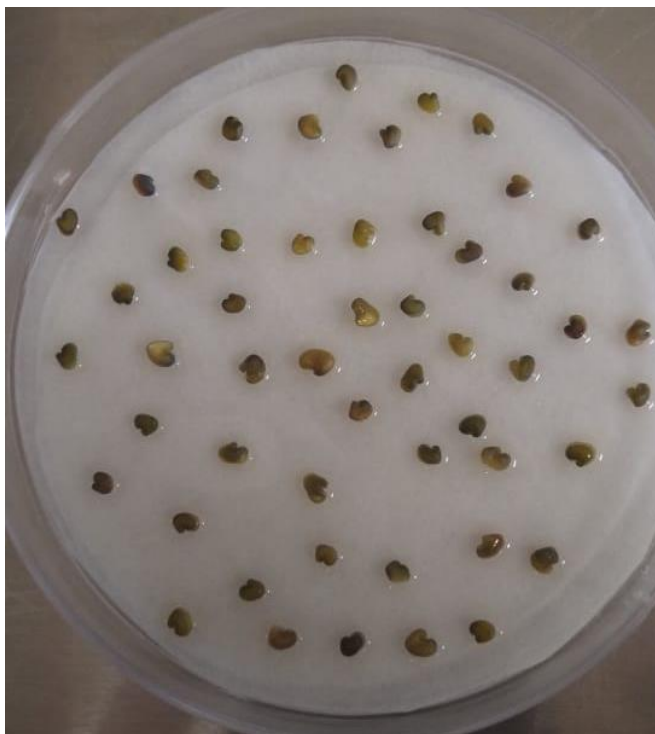
Se realizaron pruebas de germinación con ambas especies, para el caso de *Crotalaria pumila*, se realizó una prueba de germinación donde se utilizaron cajas Petri teniendo como sustrato papel filtro (Figura 6), al cual se le suministro agua destilada, una vez puestas a germinar las semillas se revisaron durante 15 días para ver el porcentaje de germinación. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Resultados de la prueba de germinación de semillas de *Crotalaria pumila*

Semillas de <i>Crotalaria pumila</i>			
Tratamiento	Total de semillas	Semillas germinadas	Porcentaje de germinación
Papel filtro	100	80	80

Los resultados nos muestran que el porcentaje de germinación para *Crotalaria pumila* fue alto (80%), por lo que podemos inferir que las semillas se encuentran en buen estado (viables) para ser utilizadas en posteriores germinaciones.





**Figura 6.** Semillas de *Crotalaria pumila* escarificadas y en cajas Petri para su germinación

Para el caso de *Sanvitalia procumbens*, se sabe que la mayoría de las especies de plantas que pertenecen a la familia Asteraceae, presentan latencia fisiológica, por lo que para la germinación de estas semillas se utilizaron dos tratamientos. Un testigo, el cual fue cajas Petri con papel filtro remojado con agua destilada, y el otro tratamiento consistió en cajas Petri con papel filtro remojado con nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) (Figura 7), este reactivo ha sido reportado en la literatura como un compuesto que ayuda a romper la latencia fisiológica de semillas (Moreno, 1984). La realización de esta prueba de germinación se realizó durante 15 días. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Resultados de la prueba de germinación de semillas de *Sanvitalia procumbens*

Semillas de <i>Sanvitalia procumbens</i>			
Tratamiento	Total de semillas	Semillas germinadas	Porcentaje de germinación
Papel filtro con Agua destilada	100	15	15
Papel filtro con $\text{KNO}_3$	100	65	65

Los resultados nos muestran que el  $\text{KNO}_3$  tiene un efecto positivo en la germinación de semillas de *Sanvitalia procumbens*, por lo cual, en las posteriores germinaciones de esta especie, se ayudó de este reactivo para la obtención de las plántulas requeridas para el proyecto.



**Figura 7.** Semillas de *Sanvitalia procumbens* germinadas en cajas Petri con papel filtro remojado con nitrato de potasio

Para la especie de *Crotalaria pumila*, se realizó la escarificación de las semillas para posteriormente germinarlas en charolas de germinación con sustrato Peat Moss, 14 días después de la germinación, las plántulas se trasladaron a los diferentes tratamientos (Figura 8), por lo que cada mes se fueron realizando los cortes. Para esta especie los cortes fueron el día 8 de cada mes, el primer corte se realizó el 8 de noviembre (2019), el último corte (4) se realizó el 8 de febrero (2020). Se realizaron 4 cortes en total de esta especie, debido a que floreció a los 90 días, y posteriormente las plantas se fueron muriendo, y solo alcanzó para realizar 4 cortes.



**Figura 8.** Individuos de *Crotalaria pumila* antes de ser trasplantadas a macetas (14 días de edad).

Para el caso de la especie *Sanvitalia procumbens*, se pusieron a germinar semillas en cajas Petri utilizando como sustrato papel filtro el cual fue remojado con 5 ml de nitrato de potasio, las semillas se dejaron por 7 días hasta que emergieron las plántulas, posteriormente se trasplantaron a charolas de germinación, donde se dejaron 21 días (Figura 9) y por último se trasplantaron a macetas con los diferentes tratamientos. El primer corte de esta especie se realizó el 16 de enero del 2020 y el último corte (5) se realizó el 17 de mayo del 2020.



**Figura 9.** Individuos de *Sanvitalia procumbens* antes de ser trasplantadas a macetas (21 días de edad).

## 7.2 Análisis fisicoquímico del biocarbón

Los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos del biocarbón fueron comparados con la NOM-021-SEMARNAT-2000, establecida para análisis de suelos.

Cada análisis fisicoquímico del biocarbón se realizó por triplicado, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Resultados del análisis fisicoquímico del biocarbón.

Parámetro	pH	M.O. (%)	N inorgánico (mg/Kg)	P aprovechable (mg/Kg)	Carbono
Valor	10	4.4	0.033	10.5	2.6

M.O.=materia orgánica, N=nitrógeno, P=fósforo.

El pH del biocarbón es de 10, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, se encuentra dentro del rango fuertemente alcalino, lo cual es un dato importante para este estudio, ya que el pH es un parámetro que influye en la biodisponibilidad de los MP.

Para la materia orgánica, el biocarbón obtuvo un porcentaje de 4.4%, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, este parámetro queda dentro del rango de alto contenido de materia orgánica, este dato era de esperarse, ya que el biocarbón proviene de un residuo vegetal como es la cáscara de coco.

Para el caso del nitrógeno, el biocarbón tiene 0.033 mg/Kg de nitrógeno, comparándolo con lo que establece la NOM-021-SEMARNAT-2000, se encuentra dentro del rango muy bajo, esto era de esperarse, ya que el biocarbón tiene un alto contenido de carbono (2.6), si realizamos la relación carbono/nitrógeno del biocarbón, encontramos que tiene una relación C/N muy alta (78).

Para el fósforo aprovechable se obtuvo 10.5 mg/Kg de fósforo, comparándolo con lo que establece la NOM-021-SEMARNAT-2000, se encuentra en el rango medio, por lo tanto, podemos decir que el biocarbón obtenido a partir de la cáscara de coco le proporcionó fósforo a las plantas de estudio.

### **7.3 Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos en individuos de *Crotalaria pumila* en condiciones de invernadero**

Se realizó un análisis de Kruskal-Wallis para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre los caracteres morfológicos de *C. pumila* bajo condiciones de invernadero (Tabla 10).

En general, hubo un efecto del tratamiento en todos los tiempos de exposición y en los cuatro caracteres morfológicos estudiados: Peso Fresco de Raíz (PFR), Peso Seco de Raíz (PSR), Peso Fresco de Hoja (PFH) y Peso Seco de Hoja (PSH), siendo los individuos de los tratamientos dos (12.5% biocarbón) y tres (25% biocarbón) los que presentaron mayor peso fresco y seco tanto de raíz y hoja con respecto a los individuos de tratamiento uno (0% biocarbón), a excepción del peso seco de raíz a los 90 días, donde no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

Con respecto al tiempo, en el tratamiento uno (0% biocarbón) no hubo diferencias significativas a través del tiempo para los cuatro caracteres estudiados. Para el tratamiento dos (12.5% biocarbón) solo hubo diferencias significativas en el PFR, siendo los individuos de los 60 días los que tuvieron mayor peso con respecto a los demás tiempos de exposición. Para los otros tres caracteres (PSR, PFH y PSH) no hubo diferencias significativas. Con respecto al tratamiento tres (25% biocarbón) no se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de exposición en los cuatro caracteres estudiados (PFR, PSR, PFH y PSH). Por último, para el tratamiento cuatro (50% biocarbón) no hubo diferencias significativas para el PFR y PFH, sin embargo, para el PSR y PSH se encontraron diferencias significativas con respecto al tiempo, siendo los individuos de los tiempos 90 y 120 días de exposición, los que presentaron mayor seco tanto de raíz como de hoja.

**Tabla 10.** Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero. Mediana  $\pm$  rango intercuartílico y análisis de Kruskal-Wallis.

Tiempo (días)	Tratamiento: Jale/biocarbón (%)										<i>K-W</i> tratamiento (3,24)
	100 / 0		87.5 / 12.5		75 / 25		50 / 50				
Peso fresco raíz (gr)											
30	0.053 $\pm$ 0.019	A a	0.201 $\pm$ 0.330	A ab	0.266 $\pm$ 0.253	A b	0.141 $\pm$ 0.144	A ab			<i>H</i> =10.353, <i>P</i> =0.016
60	0.091 $\pm$ 0.182	A a	0.968 $\pm$ 1.070	B b	0.475 $\pm$ 0.252	A a	0.159 $\pm$ 0.188	A a			<i>H</i> =14.842, <i>P</i> =0.002
90	0.083 $\pm$ 0.091	A a	0.344 $\pm$ 0.425	A b	0.334 $\pm$ 0.309	A b	0.224 $\pm$ 0.237	A b			<i>H</i> =7.980, <i>P</i> =0.046
120	0.042 $\pm$ 0.048	A a	0.348 $\pm$ 0.572	A b	0.449 $\pm$ 0.425	A b	0.358 $\pm$ 0.362	A ab			<i>H</i> =13.447, <i>P</i> =0.004
<i>K-W</i> tiempo (3,24)	<i>H</i> =4.629, <i>P</i> =0.201		<i>H</i> =9.080, <i>P</i> =0.028		<i>H</i> =4.833, <i>P</i> =0.184		<i>H</i> =4.127, <i>P</i> =0.248				
Peso seco raíz (gr)											
30	0.015 $\pm$ 0.006	A a	0.035 $\pm$ 0.042	A ab	0.040 $\pm$ 0.030	A b	0.019 $\pm$ 0.012	A ab			<i>H</i> =9.578, <i>P</i> =0.023
60	0.016 $\pm$ 0.022	A a	0.079 $\pm$ 0.066	A b	0.057 $\pm$ 0.038	A ab	0.021 $\pm$ 0.023	A a			<i>H</i> =14.593, <i>P</i> =0.002
90	0.016 $\pm$ 0.036	A a	0.043 $\pm$ 0.049	A a	0.057 $\pm$ 0.016	A a	0.054 $\pm$ 0.041	AB a			<i>H</i> =6.348, <i>P</i> =0.096
120	0.013 $\pm$ 0.006	A a	0.057 $\pm$ 0.043	A b	0.070 $\pm$ 0.046	A b	0.066 $\pm$ 0.066	B b			<i>H</i> =13.075, <i>P</i> =0.005
<i>K-W</i> tiempo (3,24)	<i>H</i> =3.378, <i>P</i> =0.337		<i>H</i> =6.413, <i>P</i> =0.093		<i>H</i> =5.511, <i>P</i> =0.138		<i>H</i> =11.080, <i>P</i> =0.011				
Peso fresco hoja (gr)											
30	0.115 $\pm$ 0.082	A a	0.351 $\pm$ 0.471	A b	0.398 $\pm$ 0.166	A b	0.190 $\pm$ 0.108	A ab			<i>H</i> =9.560, <i>P</i> =0.023
60	0.082 $\pm$ 0.071	A a	0.493 $\pm$ 0.093	A b	0.280 $\pm$ 0.291	A b	0.263 $\pm$ 0.272	A b			<i>H</i> =15.327, <i>P</i> =0.002
90	0.107 $\pm$ 0.051	A a	0.420 $\pm$ 0.189	A b	0.354 $\pm$ 0.377	A b	0.250 $\pm$ 0.258	A ab			<i>H</i> =10.856, <i>P</i> =0.013
120	0.089 $\pm$ 0.025	A a	0.327 $\pm$ 0.111	A b	0.443 $\pm$ 0.264	A b	0.381 $\pm$ 0.211	A b			<i>H</i> =8.944, <i>P</i> =0.030
<i>K-W</i> tiempo (3,24)	<i>H</i> =3.258, <i>P</i> =0.354		<i>H</i> =5.034, <i>P</i> =0.169		<i>H</i> =2.597, <i>P</i> =0.458		<i>H</i> =6.655, <i>P</i> =0.084				
Peso seco hoja (gr)											
30	0.032 $\pm$ 0.025	A a	0.094 $\pm$ 0.059	A b	0.116 $\pm$ 0.050	A b	0.044 $\pm$ 0.021	A a			<i>H</i> =13.364, <i>P</i> =0.004
60	0.026 $\pm$ 0.020	A a	0.123 $\pm$ 0.038	A b	0.065 $\pm$ 0.079	A ab	0.066 $\pm$ 0.049	AB ab			<i>H</i> =13.724, <i>P</i> =0.003
90	0.031 $\pm$ 0.016	A a	0.107 $\pm$ 0.058	A b	0.090 $\pm$ 0.078	A b	0.086 $\pm$ 0.135	B b			<i>H</i> =12.357, <i>P</i> =0.006
120	0.038 $\pm$ 0.008	A a	0.078 $\pm$ 0.044	A b	0.090 $\pm$ 0.033	A b	0.100 $\pm$ 0.020	B b			<i>H</i> =14.424, <i>P</i> =0.002
<i>K-W</i> tiempo (3,24)	<i>H</i> =3.644, <i>P</i> =0.302		<i>H</i> =4.066, <i>P</i> =0.254		<i>H</i> =2.915, <i>P</i> =0.405		<i>H</i> =10.656, <i>P</i> =0.014				

Diferentes letras minúsculas denotan diferencias significativas con una *P*<0.05 entre tratamientos para cada tiempo de exposición (Steel Dwass).

Diferentes letras mayúsculas denotan diferencias significativas con una *P*<0.05 por tratamiento a través del tiempo (Steel Dwass).

#### **7.4 Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de individuos de *Sanvitalia procumbens* en condiciones de invernadero.**

Se realizó un análisis de Kruskal-Wallis para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre los caracteres morfológicos de *S. procumbens* bajo condiciones de invernadero (Tabla 11).

En general, hubo un efecto del tratamiento en todos los tiempos de exposición y en los cuatro caracteres analizados, siendo los individuos de los tratamientos dos y tres (6.25% biocarbón y 12.5% biocarbón, respectivamente) los que presentaron mayor peso de raíz y hoja en todos los caracteres analizados con respecto al tratamiento uno (0% biocarbón), a excepción de peso seco de raíz a los 150 días de exposición, donde no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

Con respecto al tiempo, en todos los tratamientos y en los cuatro caracteres analizados, en general, hubo diferencias significativas, siendo los individuos de los últimos tiempos de exposición 90, 120 y 150 días, los que presentaron una mayor biomasa de raíz y hoja tanto en peso fresco como en peso seco con respecto a los individuos de los primeros tiempos de exposición 30 y 90 días, a excepción del peso fresco de hoja para el tratamiento tres (12.5% biocarbón), donde no hubo diferencias significativas entre los tiempos de exposición.

**Tabla 11.** Efecto del tratamiento (jale/biocarbón) y tiempo de exposición sobre caracteres morfológicos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Mediana  $\pm$  rango intercuartílico y análisis de Kruskal-Wallis.

Tiempo (días)	Tratamiento: Jale/biocarbón (%)												
	100 / 0			93.75 / 6.25			87.5 / 12.5			75 / 25			$K-W_{\text{tratamiento (3,24)}}$
	Peso fresco raíz (gr)												
30	0.102 $\pm$ 0.110	A	a	0.451 $\pm$ 0.312	A	b	1.737 $\pm$ 0.406	A	d	0.923 $\pm$ 0.336	A	c	$H=21.367, P=0.001$
60	0.971 $\pm$ 0.614	AB	a	2.213 $\pm$ 1.655	AB	ab	2.874 $\pm$ 2.199	AB	b	1.658 $\pm$ 0.742	AB	ab	$H=12.853, P=0.005$
90	0.520 $\pm$ 0.325	AB	a	4.551 $\pm$ 4.664	B	b	4.725 $\pm$ 4.297	B	b	2.480 $\pm$ 1.124	C	ab	$H=15.920, P=0.001$
120	1.158 $\pm$ 0.622	BC	a	3.689 $\pm$ 5.804	B	b	3.698 $\pm$ 1.716	AB	b	2.374 $\pm$ 0.836	BC	ab	$H=14.127, P=0.003$
150	1.459 $\pm$ 1.697	C	a	3.983 $\pm$ 4.408	B	b	2.447 $\pm$ 2.506	AB	ab	2.381 $\pm$ 0.658	BC	ab	$H=9.460, P=0.024$
$K-W_{\text{tiempo (4,30)}}$	$H=20.245, P=0.0004$			$H=17.991, P=0.001$			$H=14.215, P=0.007$			$H=20.6323, P=0.0004$			
	Peso seco raíz (gr)												
30	0.032 $\pm$ 0.025	A	a	0.067 $\pm$ 0.043	A	b	0.158 $\pm$ 0.048	A	c	0.104 $\pm$ 0.038	A	b	$H=19.884, P=0.000$
60	0.103 $\pm$ 0.022	A	a	0.251 $\pm$ 0.215	AB	ab	0.278 $\pm$ 0.361	AB	b	0.244 $\pm$ 0.185	AB	ab	$H=13.244, P=0.004$
90	0.087 $\pm$ 0.037	A	a	0.588 $\pm$ 0.429	B	b	0.682 $\pm$ 0.585	B	b	0.336 $\pm$ 0.161	B	ab	$H=16.367, P=0.001$
120	0.207 $\pm$ 0.092	B	a	0.635 $\pm$ 0.880	B	b	0.554 $\pm$ 0.302	B	ab	0.327 $\pm$ 0.192	B	a	$H=14.447, P=0.002$
150	0.328 $\pm$ 0.186	C	a	0.563 $\pm$ 0.685	B	a	0.361 $\pm$ 0.364	AB	a	0.309 $\pm$ 0.110	B	a	$H=6.687, P=0.0826$
$K-W_{\text{tiempo (4,30)}}$	$H=24.578, P=0.0001$			$H=19.862, P=0.0005$			$H=16.403, P=0.003$			$H=16.055, P=0.003$			
	Peso fresco hoja (gr)												
30	0.156 $\pm$ 0.175	A	a	0.452 $\pm$ 0.247	A	b	0.870 $\pm$ 0.241	A	c	0.571 $\pm$ 0.137	A	b	$H=19.567, P=0.000$
60	0.536 $\pm$ 0.124	C	a	1.262 $\pm$ 0.327	B	b	1.034 $\pm$ 0.849	A	b	1.003 $\pm$ 0.158	B	b	$H=15.588, P=0.001$
90	0.205 $\pm$ 0.167	AB	a	1.242 $\pm$ 2.177	B	b	1.383 $\pm$ 0.738	A	b	0.891 $\pm$ 0.393	B	ab	$H=14.687, P=0.002$
120	0.363 $\pm$ 0.171	ABC	a	0.911 $\pm$ 0.666	AB	b	1.137 $\pm$ 0.447	A	b	0.873 $\pm$ 0.240	AB	b	$H=15.620, P=0.001$
150	0.415 $\pm$ 0.300	BC	a	0.929 $\pm$ 0.862	AB	b	0.966 $\pm$ 0.810	A	b	0.895 $\pm$ 0.658	B	b	$H=10.751, P=0.013$
$K-W_{\text{tiempo (4,30)}}$	$H=14.889, P=0.005$			$H=13.544, P=0.009$			$H=9.556, P=0.059$			$H=12.608, P=0.013$			
	Peso seco hoja (gr)												
30	0.041 $\pm$ 0.038	A	a	0.092 $\pm$ 0.049	A	b	0.132 $\pm$ 0.045	A	c	0.094 $\pm$ 0.017	A	b	$H=17.376, P=0.000$
60	0.140 $\pm$ 0.034	AB	a	0.293 $\pm$ 0.106	B	b	0.331 $\pm$ 0.268	B	b	0.285 $\pm$ 0.177	BC	ab	$H=12.181, P=0.007$
90	0.074 $\pm$ 0.048	AB	a	0.309 $\pm$ 0.405	B	b	0.312 $\pm$ 0.170	B	b	0.235 $\pm$ 0.093	B	b	$H=15.402, P=0.002$
120	0.167 $\pm$ 0.146	BC	a	0.309 $\pm$ 0.269	B	bc	0.337 $\pm$ 0.115	B	c	0.199 $\pm$ 0.060	B	ab	$H=15.402, P=0.002$
150	0.212 $\pm$ 0.180	C	a	0.436 $\pm$ 0.141	B	b	0.391 $\pm$ 0.122	B	b	0.361 $\pm$ 0.098	C	b	$H=10.996, P=0.012$
$K-W_{\text{tiempo (4,30)}}$	$H=19.545, P=0.0006$			$H=16.615, P=0.002$			$H=14.525, P=0.006$			$H=21.604, P=0.0002$			

Diferentes letras minúsculas denotan diferencias significativas con una  $P<0.05$  entre tratamientos para cada tiempo de exposición (Steel Dwass).

Diferentes letras mayúsculas denotan diferencias significativas con una  $P<0.05$  por tratamiento a través del tiempo (Steel Dwass).



### **7.5 Efecto del tratamiento sobre la concentración de metales en los individuos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero.**

Se realizó un análisis de varianza para detectar el efecto de tratamiento (jale/biocarbón) sobre la bioacumulación de metales (mg/Kg). Asimismo, se realizó un análisis de regresión para conocer la relación entre el porcentaje de biocarbón añadido y la bioacumulación de MP (Fe, Zn, Pb y Cd) en raíz y tejido foliar y para cada tiempo de exposición 30, 60, 90 y 120 días (Tablas 12, 13, 14 y 15 respectivamente) en individuos de *C. pumila* bajo condiciones de invernadero.

A los 30 días de exposición; corte uno (Tabla 12) se encontró un efecto del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación de metales, para la raíz se encontró un efecto significativo del 75% en la bioacumulación de metales (Fe, Zn y Pb) a excepción del Cd, donde no hubo diferencias significativas. Para el tejido foliar, se encontró un efecto significativo del 75% en la bioacumulación de metales (Fe, Pb y Cd), a excepción de Zn, donde no presento diferencias significativas. En el caso de las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa entre el porcentaje de biocarbón sobre la concentración de metales, es decir, conforme aumenta la proporción de biocarbón en el jale, disminuye la bioacumulación de metales en la planta. Para la raíz se encontró una relación negativa y significativa del 75% de los metales (Fe, Zn y Pb), a excepción del Cd, y para el tejido foliar se encontró una relación negativa y significativa del 75% de los metales (Fe, Pb y Cd), a excepción del Zn donde no presentó una relación significativa.

A los 60 días de exposición; corte dos (Tabla 13), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación para todos los metales (Cd, Fe, Pb y Zn) para la raíz. Mientras que para el tejido foliar se encontró un efecto significativo del 50% en la bioacumulación de metales (Pb y Cd), a excepción del Fe y Zn. Por su parte, en la raíz se encontró una relación negativa y significativa para todos los metales (Cd, Fe, Pb y Zn), mientras que para el tejido foliar fue del 50% de los metales (Pb y Cd), a excepción del Fe y Zn, donde no se presentó una relación significativa.

A los 90 días de exposición; corte tres (Tabla 14), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Cd, Fe, Pb y Zn) tanto para raíz como para foliar. Asimismo, para las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en todos los metales (Cd, Fe, Pb y Zn) tanto para raíz como tejido foliar.

Para los 120 días de exposición; corte cuatro (Tabla 15), hubo un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Cd, Fe, Pb y Zn) para raíz y tejido foliar. Para las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en el 75% de los metales (Zn, Pb y Cd) para raíz y tejido foliar, a excepción del Fe, donde no presentó una relación significativa tanto para raíz como en tejido foliar.

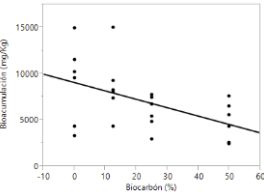
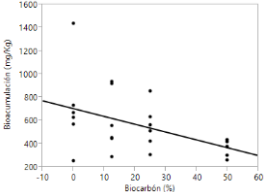
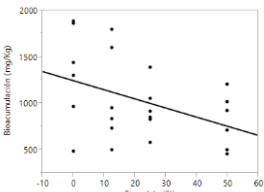
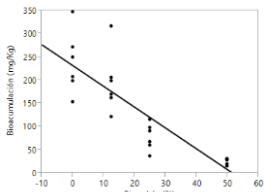
Se determinó el factor de translocación en todos los tiempos de exposición para todos los metales analizados, encontrando que todos los factores de translocación analizados fueron menores a uno. Este parámetro es el coeficiente entre la bioacumulación del metal en el tejido foliar y la bioacumulación en la raíz. Factores de translocación cuyos valores se encuentren por debajo de uno, sugieren que la planta no transloca los metales a la parte aérea, y por consecuencia, los retiene principalmente en la raíz, pudiéndose utilizar la planta para fines de fitoestabilización de MP. En este sentido, *C. pumila* obtuvo valores del factor de translocación menores a 1 en todos los tiempos y en todos los tratamientos, por lo que es una especie que se puede utilizar en procesos de fitoestabilización de MP.

**Tabla 12.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 30 días de exposición en individuos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 1			
Tratamiento (v/v)	raíz		foliar		FT
Jal/Biocarbón					
			Fe		
100 / 0	8537.88 $\pm$ 3351.20		1186.27 $\pm$ 496.35		0.14
87.5 / 12.5	2763.99 $\pm$ 2149.77		405.46 $\pm$ 261.89		0.15
75 / 25	2621.64 $\pm$ 1860.73		204.83 $\pm$ 25.31		0.08
50 / 50	2110.75 $\pm$ 753.70		87.33 $\pm$ 11.44		0.04
Anova	$F_{3,68}=33.303$ ***	$r = -0.56, r^2 = 0.32, **$	$F_{3,68}=55.793$ ***	$r = -0.68, r^2 = 0.48, ***$	
			Zn		
100 / 0	440.66 $\pm$ 281.95		51.44 $\pm$ 38.58		0.12
87.5 / 12.5	405.53 $\pm$ 130.27		34.02 $\pm$ 26.53		0.08
75 / 25	320.10 $\pm$ 105.68		31.27 $\pm$ 6.18		0.10
50 / 50	90.02 $\pm$ 62.63		37.93 $\pm$ 14.97		0.42
Anova	$F_{3,68}=16.055$ ***	$r = -0.61, r^2 = 0.37, ***$	$F_{3,68}=1.470$ ns	$r = -0.11, r^2 = 0.01, ns$	
			Pb		
100 / 0	949.72 $\pm$ 338.61		274.98 $\pm$ 107.76		0.29
87.5 / 12.5	811.46 $\pm$ 305.84		95.34 $\pm$ 70.30		0.12
75 / 25	600.69 $\pm$ 183.68		61.89 $\pm$ 22.70		0.10
50 / 50	442.76 $\pm$ 111.80		58.74 $\pm$ 32.47		0.13
Anova	$F_{3,68}=14.226$ ***	$r = -0.59, r^2 = 0.35, ***$	$F_{3,68}=42.034$ ***	$r = -0.61, r^2 = 0.38, **$	
			Cd		
100 / 0	114.30 $\pm$ 64.03		66.34 $\pm$ 66.08		0.58
87.5 / 12.5	97.03 $\pm$ 114.95		10.13 $\pm$ 6.75		0.10
75 / 25	70.23 $\pm$ 62.72		9.89 $\pm$ 4.51		0.14
50 / 50	63.10 $\pm$ 3.22		4.13 $\pm$ 0.72		0.07
Anova	$F_{3,68}=1.914$ ns	$r = -0.29, r^2 = 0.08, ns$	$F_{3,68}=13.863$ ***	$r = -0.59, r^2 = 0.36, ***$	

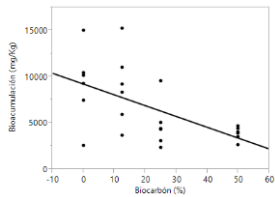
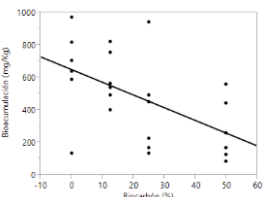
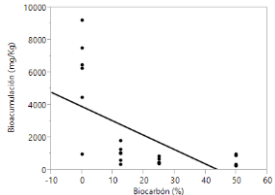
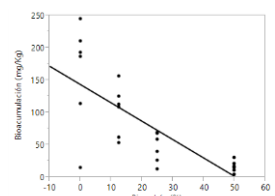
ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocacion

**Tabla 13.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 60 días de exposición en individuos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 2			
Tratamiento (v/v)	raíz			foliar	FT
<b>Fe</b>					
Jal/Biocarbón					
100 / 0	8960.38 $\pm$ 4252.65			1141.67 $\pm$ 727.98	0.13
87.5 / 12.5	8683.67 $\pm$ 3327.12			1013.70 $\pm$ 363.34	0.12
75 / 25	5843.33 $\pm$ 1753.16			953.72 $\pm$ 259.04	0.16
50 / 50	4800.08 $\pm$ 2002.90			948.51 $\pm$ 135.38	0.20
Anova	$F_{3,68}=8.500$ ***	$r=-0.45, r^2=21, **$		$F_{3,68}=0.778$ ns	$r= -0.13, r^2=0.02, ns$
<b>Zn</b>					
100 / 0	713.71 $\pm$ 369.65			147.68 $\pm$ 96.00	0.21
87.5 / 12.5	599.06 $\pm$ 253.27			139.27 $\pm$ 42.61	0.23
75 / 25	546.49 $\pm$ 177.36			111.59 $\pm$ 43.67	0.20
50 / 50	366.30 $\pm$ 70.56			104.65 $\pm$ 43.59	0.29
Anova	$F_{3,68}=6.354$ ***	$r= -0.42, r^2=0.18, *$		$F_{3,68}=2.119$ ns	$r= -0.17, r^2=0.03, ns$
<b>Pb</b>					
100 / 0	1319.80 $\pm$ 541.48			946.32 $\pm$ 390.44	0.72
87.5 / 12.5	1067.33 $\pm$ 624.08			559.26 $\pm$ 324.15	0.52
75 / 25	934.56 $\pm$ 256.86			505.24 $\pm$ 267.68	0.54
50 / 50	800.83 $\pm$ 281.06			457.86 $\pm$ 169.42	0.57
Anova	$F_{3,68}=4.263$ **	$r= -0.84, r^2=0.71, ***$		$F_{3,68}=10.033$ ***	$r= -0.40, r^2=0.17, *$
<b>Cd</b>					
100 / 0	237.84 $\pm$ 63.81			38.82 $\pm$ 3.78	0.16
87.5 / 12.5	195.42 $\pm$ 62.49			28.17 $\pm$ 3.78	0.14
75 / 25	77.52 $\pm$ 26.75			11.50 $\pm$ 3.78	0.15
50 / 50	23.49 $\pm$ 7.98			2.47 $\pm$ 3.78	0.10
Anova	$F_{3,68}=82.119$ ***	$r= -0.84, r^2=0.71, ***$		$F_{3,68}=18.748$ ***	$r= -0.63, r^2=0.41, ***$

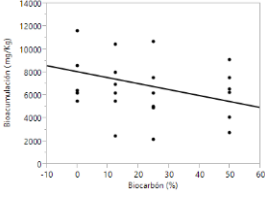
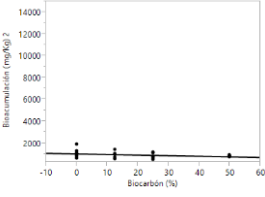
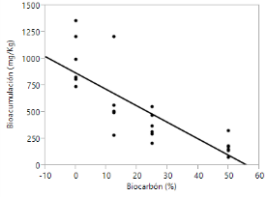
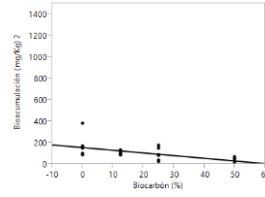
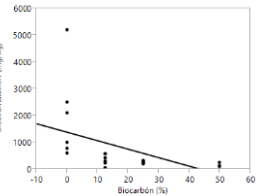
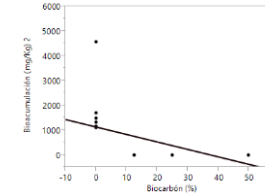
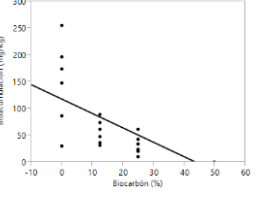
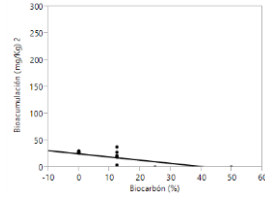
ns= diferencias no significativas, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 14.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 90 días de exposición en individuos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 3			
Tratamiento (v/v)	raíz			foliar	FT
Jal/Biocarbón					
		Fe			
100 / 0	9134.53 $\pm$ 3857.19			3525.65 $\pm$ 922.43	0.39
87.5 / 12.5	8874.31 $\pm$ 3828.98			1247.18 $\pm$ 626.22	0.14
75 / 25	4780.15 $\pm$ 2634.26			914.75 $\pm$ 432.07	0.19
50 / 50	818.45 $\pm$ 356.12			818.45 $\pm$ 356.12	0.21
Anova	$F_{3,68}=14.591$ ***	$r = -0.55, r^2=0.31, **$		$F_{3,68}=75.709$ ***	$r = -0.66, r^2=0.44, ***$
Zn					
100 / 0	641.91 $\pm$ 268.82			292.04 $\pm$ 122.37	0.45
87.5 / 12.5	594.98 $\pm$ 153.40			87.05 $\pm$ 31.52	0.15
75 / 25	104.80 $\pm$ 287.90			60.31 $\pm$ 18.56	0.15
50 / 50	272.36 $\pm$ 186.51			53.32 $\pm$ 15.08	0.20
Anova	$F_{3,68}=9.960$ ***	$r = -0.51, r^2=0.26, **$		$F_{3,68}=56.084$ ***	$r = -0.62, r^2=0.39, ***$
Pb					
100 / 0	5804.64 $\pm$ 2686.39			3368.62 $\pm$ 903.09	0.58
87.5 / 12.5	993.00 $\pm$ 481.78			ND	0.00
75 / 25	595.15 $\pm$ 210.54			ND	0.00
50 / 50	487.64 $\pm$ 327.75			ND	0.00
Anova	$F_{3,68}=62.356$ ***	$r = -0.60, r^2=0.37, ***$		$F_{3,68}=250.448$ ***	$r = -0.63, r^2=0.40, ***$
Cd					
100 / 0	160.46 $\pm$ 79.44			35.21 $\pm$ 31.97	0.22
87.5 / 12.5	102.79 $\pm$ 37.03			11.02 $\pm$ 5.65	0.11
75 / 25	45.66 $\pm$ 22.09			8.73 $\pm$ 4.60	0.19
50 / 50	15.95 $\pm$ 9.76			6.81 $\pm$ 3.57	0.43
Anova	$F_{3,68}=35.625$ ***	$r = -0.73, r^2=0.53, ***$		$F_{3,68}=11.694$ ***	$r = -0.43, r^2=0.19, *$

ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 15.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 120 días de exposición en individuos de *Crotalaria pumila* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 4			
Tratamiento (v/v)	raíz			foliar	FT
Jal/Biocarbón		Fe			
100 / 0	9047.82 $\pm$ 3874.13			1105.81 $\pm$ 446.81	0.12
87.5 / 12.5	6589.47 $\pm$ 2650.18			898.78 $\pm$ 312.09	0.14
75 / 25	6075.03 $\pm$ 3039.38			819.76 $\pm$ 266.52	0.13
50 / 50	6028.94 $\pm$ 2247.40			810.68 $\pm$ 93.20	0.13
Anova	$F_{3,68}=4.061$ **	$r = -0.24, r^2=0.06, ns$		$F_{3,68}=3.597$ *	$r = -0.24, r^2=0.06, ns$
		Zn			
100 / 0	987.80 $\pm$ 233.67			175.88 $\pm$ 103.52	0.18
87.5 / 12.5	589.71 $\pm$ 306.65			100.99 $\pm$ 20.31	0.17
75 / 25	366.33 $\pm$ 119.87			92.54 $\pm$ 56.42	0.25
50 / 50	173.70 $\pm$ 79.23			38.70 $\pm$ 23.24	0.22
Anova	$F_{3,68}=52.0168$ ***	$r = -0.78, r^2=0.61, ***$		$F_{3,68}=15.443$ ***	$r = -0.59, r^2=0.35, **$
		Pb			
100 / 0	2035.18 $\pm$ 1753.51			1884.87 $\pm$ 1261.60	0.92
87.5 / 12.5	352.52 $\pm$ 206.80			ND	0.00
75 / 25	257.52 $\pm$ 98.09			ND	0.00
50 / 50	132.62 $\pm$ 79.65			ND	0.00
Anova	$F_{3,68}=18.541$ ***	$r = -0.50, r^2=0.25, **$		$F_{3,68}=12.503$ ***	$r = -0.51, r^2=0.27, **$
		Cd			
100 / 0	148.13 $\pm$ 82.26			27.86 $\pm$ 1.38	0.19
87.5 / 12.5	56.58 $\pm$ 22.03			21.49 $\pm$ 10.45	0.38
75 / 25	32.07 $\pm$ 18.90			ND	0.00
50 / 50	ND			ND	0.00
Anova	$F_{3,68}=38.446$ ***	$r = -0.72, r^2=0.52, ***$		$F_{3,68}=136.080$ ***	$r = -0.80, r^2=0.65, ***$

ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

## **7.6 Efecto del tratamiento sobre la concentración de metales en los individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero**

Se realizó un análisis de varianza para detectar el efecto de tratamiento (jale/biocarbón) sobre la bioacumulación de metales (mg/Kg). Además, se realizó un análisis de regresión para detectar el efecto del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación de MP (Fe, Zn, Pb, Cd y Cu) para raíz y tejido foliar y para cada tiempo de exposición 30, 60, 90, 120 y 150 días (Tablas 16, 17, 18, 19 y 20) en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero.

A los 30 días de exposición; corte uno (Tabla 16), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Fe, Pb y Zn) para raíz y tejido foliar. En el caso de las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa entre el porcentaje de biocarbón sobre la concentración de metales, es decir, conforme aumenta la proporción de biocarbón en el jale, disminuye la bioacumulación de metales en la planta. Tanto para raíz como para foliar se encontró una relación negativa y significativa en todos los metales (Fe, Pb y Zn).

Para los 60 días de exposición; corte dos (Tabla 17), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Fe, Pb, Zn y Cu) para raíz y tejido foliar. En cuanto a las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en todos los metales (Fe, Pb, Zn y Cu) para la raíz, y el 75% de los metales (Pb, Zn y Cu) para el tejido foliar, a excepción de Fe donde no hubo una relación significativa.

A los 90 días de exposición; corte tres (Tabla 18), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Fe, Pb, Zn y Cu) tanto para raíz como tejido foliar. Asimismo, para las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en todos los metales (Fe, Pb, Zn y Cu) tanto para raíz y tejido foliar.

Para los 120 días de exposición; corte cuatro (Tabla 19), se encontró un efecto significativo del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Fe, Zn, Pb, Cd y Cu) tanto para raíz y tejido foliar. En cuanto a las

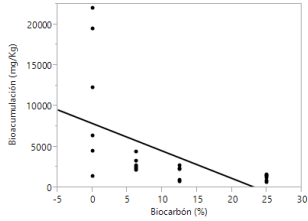
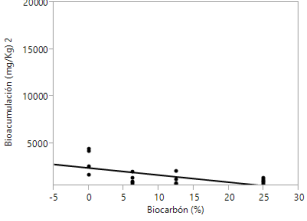
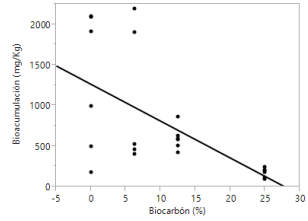
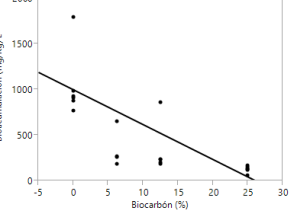
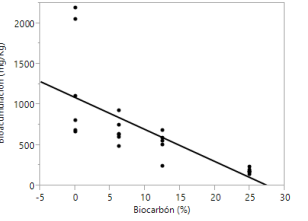
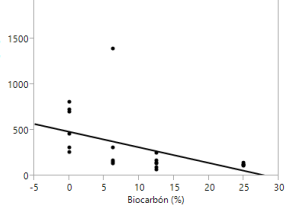
regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en todos los metales (Fe, Zn, Pb, Cd y Cu) para la raíz, mientras que, para el tejido foliar, se encontró una relación negativa y significativa en el 80% de los metales (Fe, Zn, Pb y Cu), a excepción del Cd, el cual no presentó relación significativa.

A los 150 días de exposición; corte cinco (Tabla 20), se encontró un efecto del porcentaje de biocarbón sobre la bioacumulación en todos los metales (Fe, Zn, Pb, Cd y Cu), tanto para raíz y tejido foliar. Para el caso de las regresiones, se encontró una relación negativa y significativa en el 80% de los metales (Fe, Zn, Cd y Cu) para la raíz, a excepción del Pb que no presentó relación significativa. Mientras que para el tejido foliar hubo una relación negativa y significativa en todos los metales (Fe, Zn, Pb, Cd y Cu).

El factor de translocación para esta especie también fue menor a uno, a excepción del tiempo 90 días, (Corte 3), donde el Zn presentó un valor de factor de translocación de 1.13 en el tratamiento cuatro (25% de biocarbón), sin embargo, sólo fue este tiempo y en este tratamiento, por lo que también esta especie vegetal puede ser utilizada con fines de fitoestabilización de MP, ya que los retiene en una mayor concentración en la raíz con respecto al tejido foliar.

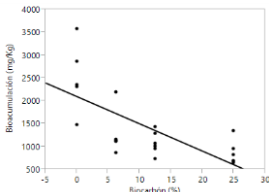
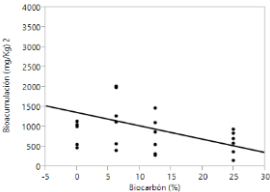
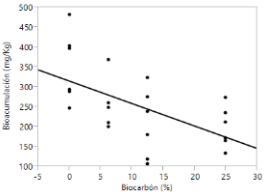
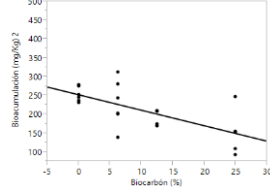
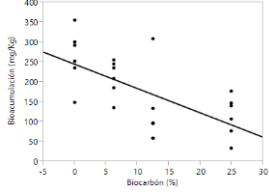
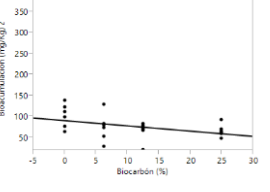
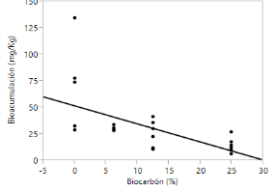
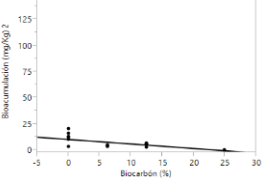


**Tabla 16.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 30 días de exposición en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 1			
Tratamiento (v/v)	raíz	Fe		foliar	FT
Jal/Biocarbón					
100 / 0	11029.3 $\pm$ 7917.47				
93.75 / 6.25	2908.9 $\pm$ 808.81			0.37	
87.5 / 12.5	1624.4 $\pm$ 831.53			0.59	
75 / 25	1186.4 $\pm$ 360.19			0.80	
Anova	$F_{3,68}=23.946$ ***	$r = -0.53, r^2=0.28, **$		$F_{3,68}=50.775$ *** $r = -0.56, r^2=0.32, **$	
Zn					
100 / 0	1295.85 $\pm$ 817.18				
93.75 / 6.25	1000.56 $\pm$ 784.43			0.83	
87.5 / 12.5	599.74 $\pm$ 158.95			0.53	
75 / 25	172.14 $\pm$ 53.75			0.73	
Anova	$F_{3,68}=13.106$ ***	$r = -0.58, r^2=0.34, **$		$F_{3,68}=8.132$ *** $r = -0.46, r^2=0.20, *$	
Pb					
100 / 0	1250.75 $\pm$ 662.68				
93.75 / 6.25	672.79 $\pm$ 148.79			0.57	
87.5 / 12.5	520.80 $\pm$ 150.66			0.27	
75 / 25	181.63 $\pm$ 35.76			0.66	
Anova	$F_{3,68}=29.532$ ***	$r = -0.69, r^2=0.49, ***$		$F_{3,68}=10.584$ *** $r = -0.47, r^2=0.2, **$	

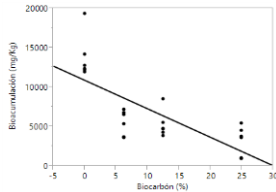
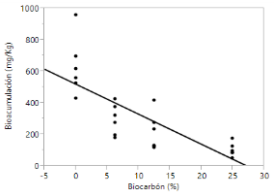
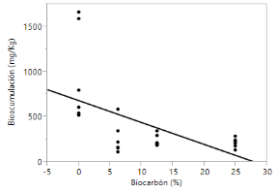
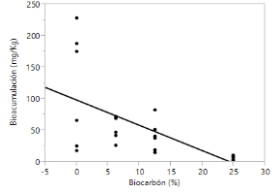
ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 17.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 60 días de exposición en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 2			
Tratamiento (v/v)	raíz		foliar		FT
<b>Fe</b>					
Jal/Biocarbón					
100 / 0	2572.68 $\pm$ 676.27		1395.54 $\pm$ 1308.77		0.54
93.75 / 6.25	1270.40 $\pm$ 442.52		1225.93 $\pm$ 644.11		0.96
87.5 / 12.5	1080.15 $\pm$ 239.82		756.45 $\pm$ 445.83		0.71
75 / 25	854.96 $\pm$ 261.55		594.58 $\pm$ 275.40		0.70
Anova	$F_{3,68}=54.939$ ***	$r = -0.68, r^2=0.46, ***$	$F_{3,68}=4.2637$ **	$r = -0.32, r^2=0.10, ns$	
<b>Zn</b>					
100 / 0	351.73 $\pm$ 85.11		252.78 $\pm$ 19.75		0.72
93.75 / 6.25	255.98 $\pm$ 59.01		229.52 $\pm$ 59.10		0.90
87.5 / 12.5	206.90 $\pm$ 83.34		195.62 $\pm$ 18.97		0.95
75 / 25	198.72 $\pm$ 48.54		151.49 $\pm$ 50.76		0.76
Anova	$F_{3,68}=17.770$ ***	$r = -0.54, r^2=0.30, **$	$F_{3,68}=20.461$ ***	$r = -0.67, r^2=0.45, ***$	
<b>Pb</b>					
100 / 0	263.65 $\pm$ 76.89		102.17 $\pm$ 34.35		0.39
93.75 / 6.25	210.60 $\pm$ 50.52		75.08 $\pm$ 33.95		0.36
87.5 / 12.5	124.87 $\pm$ 90.45		65.69 $\pm$ 23.95		0.53
75 / 25	112.92 $\pm$ 50.55		66.88 $\pm$ 15.13		0.59
Anova	$F_{3,68}=19.325$ ***	$r = -0.62, r^2=0.39, ***$	$F_{3,68}=6.634$ ***	$r = -0.37, r^2=0.14, *$	
<b>Cu</b>					
100 / 0	62.56 $\pm$ 39.12		12.46 $\pm$ 5.40		0.20
93.75 / 6.25	29.95 $\pm$ 8.32		5.56 $\pm$ 1.29		0.19
87.5 / 12.5	25.27 $\pm$ 12.33		5.22 $\pm$ 1.75		0.21
75 / 25	14.50 $\pm$ 7.05		ND		0.00
Anova	$F_{3,68}=17.120$ ***	$r = -0.56, r^2=0.31, **$	$F_{3,68}=55.326$ ***	$r = -0.75, r^2=0.57, ***$	

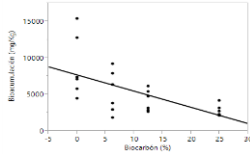
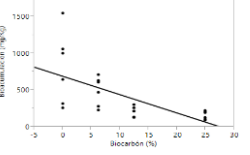
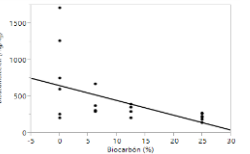
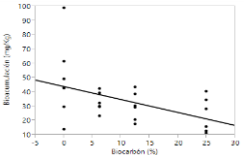
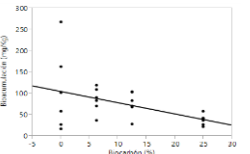
ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 18.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 90 días de exposición en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 3			
Tratamiento (v/v)	raíz		foliar	FT	
Jal/Biocarbón		Fe			
100 / 0	13786.3 $\pm$ 2704.44		10295.6 $\pm$ 4105.72	0.75	
93.75 / 6.25	5486.6 $\pm$ 1489.51		4745.8 $\pm$ 874.06	0.86	
87.5 / 12.5	5252.6 $\pm$ 1607.95		4027.7 $\pm$ 630.40	0.77	
75 / 25	3188.3 $\pm$ 1732.30		3142.2 $\pm$ 1628.65	0.99	
Anova	$F_{3,68}=104.620$ ***	$r = -0.73, r^2=0.54, ***$	$F_{3,68}=36.304$ ***	$r = -0.62, r^2=0.39, ***$	
		Zn			
100 / 0	631.39 $\pm$ 185.99		340.98 $\pm$ 266.04	0.54	
93.75 / 6.25	295.01 $\pm$ 98.89		192.41 $\pm$ 59.89	0.65	
87.5 / 12.5	215.58 $\pm$ 115.27		129.64 $\pm$ 34.24	0.60	
75 / 25	102.41 $\pm$ 41.01		116.22 $\pm$ 29.52	1.13	
Anova	$F_{3,68}=62.900$ ***	$r = -0.77, r^2=0.59, ***$	$F_{3,68}=9.987$ ***	$r = -0.43, r^2=0.188, *$	
		Pb			
100 / 0	952.27 $\pm$ 526.36		182.37 $\pm$ 89.06	0.19	
93.75 / 6.25	262.58 $\pm$ 201.59		106.38 $\pm$ 33.76	0.41	
87.5 / 12.5	237.50 $\pm$ 90.09		63.74 $\pm$ 22.27	0.27	
75 / 25	209.60 $\pm$ 53.16		51.96 $\pm$ 23.44	0.25	
Anova	$F_{3,68}=28.159$ ***	$r = -0.53, r^2=0.28, **$	$F_{3,68}=24.777$ ***	$r = -0.63, r^2=0.40, ***$	
		Cu			
100 / 0	116.17 $\pm$ 85.72		12.85 $\pm$ 3.41	0.11	
93.75 / 6.25	54.13 $\pm$ 17.80		7.90 $\pm$ 3.52	0.14	
87.5 / 12.5	40.9 $\pm$ 23.42		2.85 $\pm$ 1.16	0.07	
75 / 25	6.38 $\pm$ 3.09		ND	0.00	
Anova	$F_{3,68}=18.406, P=***$	$r = -0.60, r^2=0.36, ***$	$F_{3,68}=89.719$ ***	$r = -0.89, r^2=0.79, ***$	

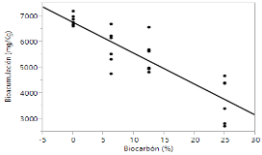
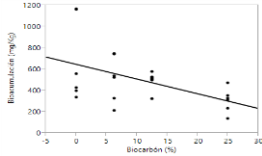
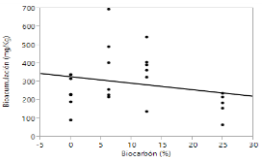
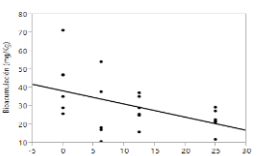
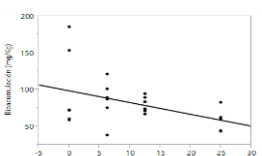
ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 19.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 120 días de exposición en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 4			
Tratamiento (v/v)	raíz			foliar	FT
<b>Fe</b>					
100 / 0	8797.46 $\pm$ 4064.60			4153.99 $\pm$ 474.64	0.47
93.75 / 6.25	5323.88 $\pm$ 2761.18			3161.44 $\pm$ 925.88	0.59
87.5 / 12.5	4144.20 $\pm$ 1397			2595.14 $\pm$ 960.25	0.63
75 / 25	2756.81 $\pm$ 749.5			1914.75 $\pm$ 379.75	0.69
Anova	$F_{3,68}=18.031$ ***	$r = -0.59, r^2=0.35, **$		$F_{3,68}=30.066$ ***	$r = -0.72, r^2=0.52, ***$
<b>Zn</b>					
100 / 0	801.68 $\pm$ 466.16			271.52 $\pm$ 71.56	0.34
93.75 / 6.25	484.88 $\pm$ 184.88			191.02 $\pm$ 31.94	0.39
87.5 / 12.5	218.37 $\pm$ 74.60			143.41 $\pm$ 36.34	0.66
75 / 25	153.91 $\pm$ 53.39			117.33 $\pm$ 28.43	0.76
Anova	$F_{3,68}=24.123$ ***	$r = -0.63, r^2=0.40, ***$		$F_{3,68}=39.936$ ***	$r = -0.72, r^2=0.52, ***$
<b>Pb</b>					
100 / 0	797.04 $\pm$ 568.27			197.77 $\pm$ 28.42	0.25
93.75 / 6.25	373.50 $\pm$ 147.99			176.00 $\pm$ 66.32	0.47
87.5 / 12.5	320.75 $\pm$ 87.14			126.07 $\pm$ 60.60	0.39
75 / 25	215.35 $\pm$ 61.70			66.57 $\pm$ 33.97	0.31
Anova	$F_{3,68}=13.200$ ***	$r = -0.49, r^2=0.24, **$		$F_{3,68}=24.766$ ***	$r = -0.72, r^2=0.52, ***$
<b>Cd</b>					
100 / 0	49.14 $\pm$ 27.63			7.08 $\pm$ 3.24	0.14
93.75 / 6.25	32.69 $\pm$ 6.75			5.00 $\pm$ 1.77	0.15
87.5 / 12.5	29.94 $\pm$ 9.53			6.38 $\pm$ 1.73	0.21
75 / 25	23.73 $\pm$ 11.71			6.06 $\pm$ 1.41	0.26
Anova	$F_{3,68}=8.165$ ***	$r = -0.42, r^2=0.18, *$		$F_{3,68}=2.8814$ *	$r = -0.19, r^2=0.040, ns$
<b>Cu</b>					
100 / 0	105.23 $\pm$ 90.28			14.33 $\pm$ 1.31	0.14
93.75 / 6.25	84.44 $\pm$ 28.02			6.21 $\pm$ 1.46	0.07
87.5 / 12.5	75.67 $\pm$ 28.82			5.64 $\pm$ 2.54	0.07
75 / 25	37.34 $\pm$ 12.11			ND	0.00
Anova	$F_{3,68}=5.842$ ***	$r = -0.41, r^2=0.17, *$		$F_{3,68}=242.660$ ***	$r = -0.92, r^2=0.84, ***$

ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

**Tabla 20.** Análisis de varianza para detectar el efecto del tratamiento (jale/biocarbón) sobre la concentración de metales (mg/Kg) y análisis de regresión a los 150 días de exposición en individuos de *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

		Corte 5			
Tratamiento (v/v)	raíz			foliar	FT
<b>Fe</b>					
Jal/Biocarbón					
100 / 0	6843.10 $\pm$ 522.50			4082.22 $\pm$ 780.79	0.60
93.75 / 6.25	5771.09 $\pm$ 690.85			3778.38 $\pm$ 943.30	0.65
87.5 / 12.5	5431.07 $\pm$ 693.65			3479.97 $\pm$ 876.44	0.64
75 / 25	3721.07 $\pm$ 8.949			2955.33 $\pm$ 1306.91	0.79
Anova	$F_{3,68}=58.453$ ***	$r = -0.87, r^2=0.75, ***$		$F_{3,68}=4.176$ **	$r = -0.36, r^2=0.13, *$
<b>Zn</b>					
100 / 0	672.12 $\pm$ 363.64			333.54 $\pm$ 43.89	0.50
93.75 / 6.25	512.10 $\pm$ 206.09			291.52 $\pm$ 138.43	0.57
87.5 / 12.5	488.28 $\pm$ 86.17			191.25 $\pm$ 69.85	0.39
75 / 25	303.16 $\pm$ 119.20			176.52 $\pm$ 46.36	0.58
Anova	$F_{3,68}=8.377$ ***	$r = -0.48, r^2=0.23, **$		$F_{3,68}=14.921$ ***	$r = -0.55, r^2=0.30, **$
<b>Pb</b>					
100 / 0	507.23 $\pm$ 138.48			191.00 $\pm$ 46.03	0.38
93.75 / 6.25	381.33 $\pm$ 189.05			163.90 $\pm$ 62.80	0.43
87.5 / 12.5	359.91 $\pm$ 168.12			117.64 $\pm$ 49.85	0.33
75 / 25	181.75 $\pm$ 71.96			76.51 $\pm$ 36.89	0.42
Anova	$F_{3,68}=14.636$ ***	$r = -0.08, r^2=0.008, ns$		$F_{3,68}=18.585$ ***	$r = -0.54, r^2=0.29, **$
<b>Cd</b>					
100 / 0	42.49 $\pm$ 17.09			3.69 $\pm$ 0.87	0.09
93.75 / 6.25	29.21 $\pm$ 15.81			2.76 $\pm$ 0.81	0.09
87.5 / 12.5	27.93 $\pm$ 15.81			2.67 $\pm$ 0.56	0.10
75 / 25	22.29 $\pm$ 5.75			2.48 $\pm$ 0.72	0.11
Anova	$F_{3,68}=8.364$ ***	$r = -0.44, r^2=0.20, *$		$F_{3,68}=9.366$ ***	$r = -0.51, r^2=0.26, **$
<b>Cu</b>					
100 / 0	100.27 $\pm$ 51.55			12.06 $\pm$ 1.90	0.12
93.75 / 6.25	85.41 $\pm$ 26.11			9.80 $\pm$ 4.24	0.11
87.5 / 12.5	79.81 $\pm$ 10.44			8.60 $\pm$ 4.27	0.11
75 / 25	58.62 $\pm$ 15.35			6.28 $\pm$ 2.99	0.11
Anova	$F_{3,68}=5.817$ ***	$r = -0.41, r^2=0.17, *$		$F_{3,68}=8.567$ ***	$r = -0.49, r^2=0.24, **$

ns= diferencias no significativas, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , FT=Factor de Traslocación

## 8. Discusión

### 8.1 Caracterización Físicoquímica del biocarbón

#### 8.1.1 pH

De acuerdo con los resultados obtenidos, el biocarbón presenta un pH de 10, dentro del rango fuertemente alcalino establecido por la NOM-021-SEMARNAT-2000. En un estudio realizado por la SEMARNAT (2004 y 2005) en los jales de Huautla, reportaron un pH de 8.2 (ligeramente alcalino). Por su parte Solís (2016) reportó un pH de 8 a 8.4 (ligeramente alcalino) en los jales de Huautla. Los estudios mencionados anteriormente reportan que los jales de Huautla tienen valores ligeramente alcalinos, por lo que, al mezclar el jale con el biocarbón, el pH de esta combinación puede resultar en un rango de 8 a 10, de ligeramente alcalino a fuertemente alcalino, dato importante en la biodisponibilidad de los metales.

En cuanto a otros estudios relacionados con las características físicoquímicas del biocarbón, se ha descrito que el pH de biocarbones producidos a partir de diferentes biomásas residuales, presentan valores que van de ligeramente a fuertemente alcalino (7 a 11). Nawad *et al.* (2018), reportaron valores de 8.2 y 8.5 en biocarbones obtenidos a partir de estiércol de granja y de turba de musgo respectivamente producidos a 450°C. Por su parte, Soria (2016) encontró un pH de 10.3, 9.9 y 9.1 para biocarbones obtenidos a partir de estiércol vacuno, olote de maíz y planta de tule respectivamente, producidos a una temperatura promedio de 550°C. Asimismo, Lee *et al.* (2013) reportaron valores de pH de 9.6 y 10.5 para biocarbones obtenidos de madera y paja de arroz producidos a una temperatura de 500°C. De igual manera, Wang *et al.* (2015) reportó valores de pH de 9.8 a una temperatura de 300°C y de 11.3 a una temperatura de 600°C. Por su parte, Yuan *et al.* (2011) investigaron la influencia de la temperatura de pirólisis a 300, 500 y 700°C en cuatro biocarbones obtenidos a partir de paja de canola, paja de maíz, paja de soja y paja de maní, encontrando que los biocarbones producidos a 700°C fueron los que presentaron mayor pH (10.7, 11.3, 11.1 y 11.1 respectivamente) con respecto a los producidos a 300°C (6.4, 9.3, 7.6 y 8.6 respectivamente) y 500°C (9.3, 10.7, 10.9 y 10.8 respectivamente),

encontrando que el pH de los biocarbones aumenta con la temperatura de pirólisis, estos autores reportan que la alcalinidad de los biocarbones está influenciada por los carbonatos encontrados en los biocarbones de este estudio. En otro estudio, Puga *et al.* (2015) obtuvieron un pH de 10.2 en un biocarbón obtenido de caña de azúcar y producido a 700°C. Por su parte, Lu *et al.* (2017) reportaron que el pH de los dos biocarbones obtenidos a partir de paja de arroz y bambú fueron de 10 y 9.5, producidos a temperaturas de 500 y 700°C. Por último, Melo *et al.* (2013) reportaron que el pH de biocarbón obtenido a partir de caña de azúcar aumentaba con la temperatura de pirólisis, encontrando pH de 8.6, 9.7, 9.8 y 10.1 a 400, 500, 600 y 700°C. De acuerdo con los estudios mencionados anteriormente, el pH es un parámetro que está influido por la temperatura de pirólisis, encontrando que a mayor temperatura de pirólisis mayor pH en los biocarbones, independientemente de la biomasa utilizada, es decir, la temperatura de pirólisis influye en mayor medida que la biomasa a partir de la cual se obtiene el biocarbón. El pH es de los parámetros que más influye en la movilidad de los MP en el suelo. Varios estudios han reportado como el biocarbón modifica el pH de los suelos donde son adicionados y su posible función en la biodisponibilidad de MP. Chen *et al.* (2018) en su revisión de artículos sobre el biocarbón, encontraron que, en la mayoría de los estudios, reportaron que el biocarbón aumentó considerablemente el pH de los suelos. Como se describió anteriormente, a mayor temperatura de pirólisis, mayor pH en los biocarbones. Los aumentos del pH del suelo pueden causar precipitación de metales y disminuir la solubilidad de estos conduciendo a una menor movilización en el suelo (Ma *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2013). Por su parte, Uchimiya *et al.* (2011) mencionan que las uniones de iones metálicos con ligandos de la superficie del biocarbón está muy relacionada con el pH, por lo que estas uniones pueden ser promovidas por un aumento del pH en el suelo gracias al biocarbón. De la misma manera, Shen *et al.* (2016) reportan que los aumentos en el pH podrían dar como resultado en un aumento de los sitios superficiales cargados negativamente en el suelo y por consecuencia, en la capacidad de sorción para los metales catiónicos. Por otro lado, Lu *et al.* (2017) reportó un aumento en las interacciones electrostáticas entre cationes metálicos

y los grupos funcionales activados provocados por un aumento en el pH del suelo. Por su parte, Nawad *et al.* (2018) menciona que a un pH superior a 7, las concentraciones de iones metálicos se reducen debido al aumento de la carga de óxido superficial, la precipitación de hidróxidos metálicos y la quelación con la materia orgánica. En este estudio el biocarbón obtenido a partir de la cáscara de coco obtuvo un pH de 10, por lo que este parámetro pudo influir en la inmovilización de los MP en el suelo para una menor absorción por parte de las plantas.

### **8.1.2 Materia orgánica**

El biocarbón obtuvo un porcentaje de M.O. de 4.4%, lo que lo coloca en el rango de alto contenido de M.O. de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000. En un estudio realizado por Solís (2016), reporta que los jales de Huautla tuvieron porcentajes de 0.52 a 0.87%, valores que de acuerdo con la Norma mencionada anteriormente los clasifica de bajos a muy bajos. Entonces, al agregar biocarbón al sustrato jale, es beneficioso para aumentar el porcentaje de M.O. y así influir positivamente en los procesos que se desarrollan en el suelo. Un aspecto importante, es que la capacidad de intercambio catiónico aumenta proporcionalmente conforme aumenta el porcentaje de M.O. en el suelo. Sin embargo, el biocarbón tiene una capacidad aun mayor que otra M.O. del suelo para absorber cationes por unidad de carbono (Lehmann, 2007), lo cual es importante porque influye en la movilización y biodisponibilidad de los MP. Como se mencionó anteriormente, al agregar biocarbón al sustrato jale, se benefician la mayoría de los procesos que ocurren en el suelo, entre los que se encuentran: suministro y disponibilidad de nutrientes para las plantas, estabilización de la acidez, mejora la estructura del suelo, entre otros. La M.O. del suelo también influye en la movilización de los MP. En un estudio realizado por Lu *et al.* (2017) reportaron que los MP unidos a la M.O. aumentaron después de la aplicación de biocarbón. Es decir, el biocarbón tiene una capacidad aun mayor que otro tipo de M.O. del suelo para absorber cationes metálicos por unidad de carbono (Lehmann, 2007). Por su parte, Escalante *et al.* (2016) mencionan que el



biocarbón presenta una mayor C.I.C por unidad de carbono que la M.O. del suelo, debido a su mayor área y carga negativa superficial y a una mayor densidad de carga. Los responsables del incremento de la C.I.C. pueden ser los grupos carboxílicos que se forman sobre los puentes de núcleos aromáticos del biocarbón que resultan de su oxidación (Lian *et al.*, 2006). Uchimiya *et al.* (2010) menciona que la M.O. juega un papel importante en la movilización de MP a través de dos mecanismos; 1) la formación de complejos con fracciones orgánicas coordinadoras de iones metálicos y 2) la competencia entre la M.O. y los iones metálicos por los sitios de sorción. En este estudio el biocarbón obtuvo un 4.4% de M.O. colocándose en el nivel de alto contenido, por lo que también el porcentaje de M.O. pudo influir en la inmovilización de los MP en el suelo y una reducción en los tejidos de las plantas.

### **8.1.3 Contenido de Nitrógeno y Fósforo**

El biocarbón presentó 0.033 mg/Kg de nitrógeno, que lo coloca dentro del rango muy bajo a lo que establece la NOM-021-SEMARNAT-2000. Esto es de esperarse, ya que el biocarbón presentó un alto contenido de carbono (2.6), lo que resulta en una relación carbono/nitrógeno (C/N) muy alta de 78. Respecto a esto, Novak *et al.* (2010), reportaron valores elevados de la relación C/N de 245 en un biocarbón de cáscara de nuez, estos autores mencionan que los materiales ricos en nitrógeno presentan una relación C/N baja, los cuales son buenos para producir composta y favorecen la liberación de nitrógeno para las plantas y microorganismos. Por otro lado, cuando la relación es alta, como en la mayoría de los materiales leñosos, la liberación de nitrógeno es disminuida o nulificada. Sin embargo, el biocarbón puede retener temporalmente nitrógeno y liberarlo lentamente y así, favoreciendo la absorción por las plantas, incrementando la eficiencia del nitrógeno y la productividad de los cultivos (Zheng *et al.*, 2013).

Para el fósforo, el biocarbón presentó 10.5 mg/Kg, lo que se encuentra en el rango medio de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, por lo que podemos decir que al agregar biocarbón al sustrato jale, se puede disponer de

este elemento, al menos en pequeñas cantidades, para su absorción por parte de las plantas. Asimismo, la disponibilidad del fósforo depende de la relación C/N, siendo las relaciones altas, cuando el fósforo puede ser menor del necesario para la nutrición de las plantas, permaneciendo inmovilizado, si la relación es baja, puede ser liberado un exceso de fósforo en formas de fosfatos inorgánicos, aprovechado por las plantas (Ortiz *et al.*, 1993).

## **8.2 Influencia del biocarbón sobre la absorción y bioacumulación de metales pesados en *Crotalaria pumila* y *Sanvitalia procumbens***

*Crotalaria pumila* bioacumuló cuatro MP, con el siguiente patrón de bioacumulación Fe > Pb > Zn > Cd, durante los 120 días de exposición que duró el experimento. Se han realizado estudios sobre la bioacumulación de MP en *C. pumila*. Sánchez *et al.* (2018) reportó que *C. pumila* bioacumuló Zn > Cu > Cd > Pb, en ese patrón de bioacumulación, considerándola como especie extractora de Zn con un factor de translocación de 9.2, mientras que, para los demás metales el factor de translocación fue menor de uno. Por otro lado, Santoyo-Martínez (2020) reportó que *C. pumila* bioacumuló Cu > Fe > Pb > Zn, encontrando mayor bioacumulación en raíz con respecto a tejido foliar, a excepción del Cu, que presentó mayores concentraciones en tejido foliar con un factor de translocación de 1.33. Para los otros metales el factor de translocación fue menor a 1, proponiendo a *C. pumila* como especie acumuladora de Cu con potencial fitorremediador de ambientes contaminados con este metal. Además, *C. pumila* presenta diferentes ventajas para ser utilizada en procesos de fitorremediación de MP, por ejemplo, se le ha descrito como especie pionera en ambientes perturbados, tiene un alto porcentaje de germinación, tiene una gran distribución geográfica abarcando tres tipos de vegetación como matorrales xerófilos, bosques caducifolios tropicales y bosques templados (Rzedowski 2006), es una planta dominante en el estrato herbáceo, además de que es de rápido crecimiento, por lo que estas características hacen que *C. pumila* sea una especie vegetal con potencial fitorremediador en ambientes contaminados por MP.

Para el Fe, *C. pumila* bioacumuló en promedio para el Tratamiento uno (0% biocarbón) 8,919 mg/Kg en raíz y 1,739 mg/Kg en tejido foliar, por lo que el factor de translocación fue menor de uno. Para el tratamiento dos (12.5% biocarbón) bioacumuló 6727 mg/Kg en raíz y 890 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento tres (25% biocarbón) bioacumuló 4,829 mg/Kg en raíz y 722 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (50% biocarbón) bioacumuló 3,439 mg/Kg en raíz y 665 mg/Kg en tejido foliar. Como podemos observar, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón en el sustrato jale, disminuye la concentración de Fe tanto en raíz como en tejido foliar, logrando una disminución del 25, 46 y 61% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en raíz, y una disminución del 49, 58 y 62% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en tejido foliar (ver discusión al final de este apartado).

Para el caso del Pb, que fue el segundo metal que más bioacumuló *C. pumila*, después del Fe, para el tratamiento uno (0% biocarbón) bioacumuló en promedio 2,526 mg/Kg en raíz y 1,618 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (12.5% biocarbón) bioacumuló 805 mg/Kg en raíz y 327 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento tres (25% biocarbón) bioacumuló 596 mg/Kg en raíz y 283 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (50% biocarbón) bioacumuló 465 mg/Kg en raíz y 257 mg/Kg en tejido foliar. De igual manera como en el caso del Fe, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón en el sustrato jale, la bioacumulación de Pb disminuye tanto para raíz como para tejido foliar, logrando un porcentaje de disminución del 68, 76 y 82% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en raíz, y para tejido foliar se logró una disminución del 80, 83 y 84% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

En cuanto al Zn, que fue el tercer metal que más bioacumuló en concentración, presentando una bioacumulación para el tratamiento uno (0% biocarbón) de 695 mg/Kg en raíz y 166 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (12.5% biocarbón) bioacumuló 546 mg/Kg en raíz y 90 mg/Kg en tejido foliar. Con respecto al tratamiento tres (25% biocarbón) bioacumuló 334 mg/Kg en raíz y 73 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (50% biocarbón)

bioacumuló 225 mg/Kg en raíz y 58 mg/Kg en tejido foliar. Al igual que el Fe y Pb, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón en el sustrato jale, la concentración de Zn disminuye tanto para raíz como para tejido foliar, logrando un porcentaje de disminución del 21, 52 y 68% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en la raíz, y para el tejido foliar se logró un porcentaje de disminución del 46, 56 y 65% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

Para el Cd, que fue el metal que menos bioacumuló *C. pumila* de los cuatro (Fe, Pb y Zn). Para el tratamiento uno (0% biocarbón) presentó una bioacumulación de 164 mg/Kg en raíz y 41 mg/Kg en tejido foliar. En el tratamiento dos (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 112 mg/Kg en raíz y 17 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento tres (25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 56 mg/Kg en raíz y 10 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (50% biocarbón) presentó una bioacumulación de 33 mg/Kg en raíz y 10 mg/Kg en tejido foliar. El mismo patrón se encontró en los cuatro metales que bioacumuló *C. pumila*, a mayor cantidad de biocarbón incorporado a sustrato jale, menor la concentración de Cd en la raíz como en el tejido foliar, logrando un porcentaje de disminución del 32, 66 80% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en la raíz, y para el tejido foliar, se logró un porcentaje de disminución del 59, 76 y 90% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

El factor de translocación en esta especie vegetal y para los cuatro metales bioacumulados fue menor a uno, lo que indica que esta especie vegetal bioacumuló mayor concentración en las raíces que en el tejido foliar, por lo tanto, se recomienda utilizar a plantas fitoestabilizadoras como *C. pumila* junto con la enmienda del biocarbón agregada a suelos contaminados, para hacer más eficiente el proceso de fitoestabilización de MP.

Por su parte, *Sanvitalia procumbens* bioacumuló cinco MP con el siguiente patrón de bioacumulación Fe > Zn > Pb > Cu > Cd, el Fe, Zn y Pb se bioacumularon en los 150 días de exposición, el Cu se bioacumuló a partir del

día 60 de exposición hasta final de experimento y el Cd se bioacumuló del día 120 de exposición hasta los 150 días de exposición. Con respecto al factor de traslocación, en todos los tiempos de exposición y en todos los metales analizados fue menor a uno, a excepción del Zn en el tiempo de exposición 90 días en el tratamiento cuatro, donde el factor de translocación fue de 1.13, sin embargo, en todos los demás metales el factor fue menor a uno, por lo que en este estudio se propone a esta especie junto con la enmienda del biocarbón para utilizarse en procesos de fitoestabilización de MP.

Con respecto a los estudios realizados sobre la bioacumulación de MP en *S. procumbens*. Cho-Ruk *et al.* (2006) reportó que *S. procumbens* mostró una bioacumulación de 12.44 mg/Kg de Pb, disminuyendo el 16.44% de la concentración total del suelo. En otro estudio, Gonzáles y Gonzáles (2006) investigaron la flora asociada en cuatro sitios mineros de Zacatecas. Reportando que *S. procumbens* bioacumuló 71 mg/Kg de Pb y 400 mg/Kg de Zn. Además, Rosas (2018) reportó que *S. procumbens* bioacumuló Fe, Zn, Pb y Cd en tejido de raíz y foliar, bioacumulando mayor concentración en raíz que en foliar, proponiéndola para fines de fitoestabilización de MP. *S. procumbens* es una planta herbácea de rápido crecimiento con un sistema radicular masivo y complejo que se desarrolla muy cerca de la superficie, atribuyendo la acumulación de metales en esta especie gracias a su extenso desarrollo de su sistema radicular (Cho-Ruk *et al.*, 2006), además de que presenta una amplia distribución geográfica, puede crecer en ambientes perturbados con deficiencia de nutrientes, por lo que se puede utilizar en procesos de fitorremediación de MP.

Con respecto al Fe, que fue el metal que más bioacumuló *S. procumbens*, presentando en el tratamiento uno (0% biocarbón) una bioacumulación de 8,605 mg/Kg en raíz y 4,938 mg/Kg en el tejido foliar. Para el tratamiento dos (6.25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 4,151 mg/Kg en raíz y 3,493 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento tres (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 3,506 mg/Kg en raíz y 2,955 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (25% biocarbón) presentó una bioacumulación

de 2,341 mg/Kg en raíz y 1,907 mg/Kg en tejido foliar. Como podemos observar, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón en el sustrato jale, disminuye la concentración del Fe en raíz y tejido foliar, logrando una reducción del 52, 59 y 73% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en la raíz, y para el tejido foliar las reducciones fueron un 25, 36 y 59% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

Para el caso del Zn, que fue el metal que más bioacumuló después del Fe, *S. procumbens* presentó en el tratamiento uno (0% biocarbón) una bioacumulación de 750 mg/Kg en raíz y 448 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (6.25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 509 mg/Kg en raíz y 347 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento tres (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 431 mg/Kg en raíz y 195 mg/Kg en tejido foliar. Por último, en el tratamiento cuatro (25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 185 mg/Kg en raíz y 135 mg/Kg en tejido foliar. Al igual que le Fe, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón al sustrato jale, la concentración de Zn disminuye en raíz y hoja, presentando un porcentaje de reducción del 32, 43 y 75% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en la raíz, y para el tejido foliar fueron del 23, 56 y 70% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

En cuanto al Pb, que fue el tercer metal que más se bioacumuló, presentando una bioacumulación para el tratamiento uno (0% biocarbón) de 753 mg/Kg en raíz y 243 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (6.25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 379 mg/Kg en raíz y 180 mg/Kg en tejido foliar. En el tratamiento tres (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 258 mg/Kg en raíz y 102 mg/Kg en tejido foliar. Por último, para el tratamiento cuatro (25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 179 mg/Kg en raíz y 75 mg/Kg en tejido foliar. De la misma manera que con el Fe y el Zn, a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón al sustrato jale, la concentración de Pb disminuye en raíz y tejido foliar, logrando una reducción del 50, 66, y 76% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, para la raíz, y para el tejido foliar los

porcentajes de reducción fueron 26, 58 y 69% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

Con respecto al Cu, *S. procumbens* bioacumuló en el tratamiento uno (0% biocarbón) 95 mg/Kg en raíz y 12 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (6.25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 63 mg/Kg en raíz y 7 mg/Kg en tejido foliar. En el tratamiento tres (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 54 mg/Kg en raíz y 5 mg/Kg en tejido foliar. Por último, en el tratamiento cuatro (25% biocarbón) bioacumuló 28 mg/Kg en raíz y 6 mg/Kg para tejido foliar. Al igual que los otros metales (Fe, Zn y Pb), el Cu se reduce cuando se aplica una cantidad mayor al sustrato jale, logrando porcentajes de reducción del 34, 43 y 71% en los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, para la raíz, y para el tejido foliar los porcentajes de reducción fueron 42, 58 y 50% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente (ver discusión al final de este apartado).

Con respecto al Cd, que fue el metal que menor bioacumulación presentó en raíz y tejido foliar, presentando en el tratamiento uno (0% biocarbón) una bioacumulación de 45 mg/Kg en raíz y 5 mg/Kg en tejido foliar. Para el tratamiento dos (6.25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 30 mg/Kg en raíz y 4 mg/Kg en tejido foliar. En el tratamiento tres (12.5% biocarbón) presentó una bioacumulación de 28 mg/Kg en raíz y 4 mg/Kg en tejido foliar. Por último, en el tratamiento cuatro (25% biocarbón) presentó una bioacumulación de 22 mg/Kg en raíz y 4 mg/Kg en tejido foliar. Al igual que los otros cuatro metales (Fe, Zn, Pb y Cu), a medida que se incrementa la cantidad de biocarbón en el sustrato jale, la concentración de Cd en raíz y tejido foliar disminuye, logrando porcentajes de reducción de 33, 38 y 51% para los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, en la raíz, y para tejido foliar los porcentajes de reducción fueron 20% para los tratamientos 2, 3 y 4 (ver discusión al final de este apartado).

Para las dos especies vegetales utilizadas para este estudio (*C. pumila* y *S. procumbens*) el patrón de bioacumulación con respecto a los tratamientos fue similar, es decir, conforme se aumentaba la proporción de biocarbón al sustrato jale, las concentraciones de MP en raíz y tejido foliar disminuyen, siendo el

tratamiento cuatro (mayor proporción de biocarbón; 50% y 25% para *C. pumila* y *S. procumbens* respectivamente) donde se registró una menor bioacumulación en los metales analizados tanto para raíz como para tejido foliar. Estos resultados son similares a los encontrados por Chen *et al.* (2018) quienes realizaron un metaanálisis del efecto que tiene el biocarbón en la disponibilidad de MP y su absorción por las plantas, encontrando que las tasas de aplicación en niveles elevados de biocarbón, fueron las que resultaron en mayores reducciones en las concentraciones de metales en los tejidos de las plantas, debido a la mayor retención e inmovilización de metales cuando se agrega mayores concentraciones de biocarbón a los suelos contaminados por MP, logrando reducciones de Cd, Pb, Cu y Zn en un 38, 39, 35 y 17% respectivamente.

Así mismo, el factor de translocación fue menor a uno en las dos especies vegetales, por lo que la enmienda del biocarbón junto con las plantas estabilizadoras como las utilizadas en este estudio, puede ser una técnica efectiva para estabilizar suelos contaminados con MP y así evitar que los contaminantes entren a las cadenas tróficas.

En este estudio *C. pumila* y *S. procumbens* al crecer en un suelo contaminado por MP, lograron reducir la concentración de metales tanto en la raíz como en el tejido foliar cuando el sustrato jale fue combinado con diferentes cantidades de biocarbón, por lo que el biocarbón es una técnica efectiva la reducir la biodisponibilidad de MP. Durante las últimas dos décadas, se ha puesto gran interés al estudio del biocarbón por sus diferentes funciones que puede tener cuando se adiciona al suelo. Dentro de estas características se encuentran: su alta estabilidad contra la descomposición (es recalcitrante), su capacidad superior para retener nutrientes en comparación con otras formas de materia orgánica (Lehmann, 2007). Asimismo, el biocarbón puede hacer frente a problemas medioambientales, dentro de los cuales se encuentran: mitigación al cambio climático, mejora en las propiedades de los suelos, así como reducción de la contaminación ambiental (Escalante *et al.*, 2016.), este último aspecto, se debe a que la materia prima de la que se puede producir biocarbón, proviene de



residuos orgánicos, que generalmente causan problemas de contaminación ambiental (Lehmann, 2007). Por otro lado, entre las enmiendas que se utilizan para absorber MP y disminuir su biodisponibilidad, el biocarbón he demostrado ser eficaz (Chen *et al.*, 2018).

La biomasa de cáscara de coco representa una fuente importante como materia prima para la producción de biocarbón, específicamente, usándolo como enmienda para estabilizar MP junto con especies de plantas que ayuden a realizar este proceso, como lo obtenido en este estudio. Además, las características de la fibra de coco presentan una seria de ventajas con respecto a otras biomásas, por ejemplo, se ha descrito que el biocarbón obtenido de la cáscara de coco resulta en mayor dureza y resistencia a la degradación, comparándolo con el biocarbón obtenido de madera (Luna *et al.*, 2007), esto gracias a su alto contenido de lignina y celulosa (Puentes y Joya, 2005). Por otro lado, si bien la cáscara de coco se usa a nivel artesanal (Puentes y Joya, 2005), su biodisponibilidad es alta, es decir que no hay un desabasto de esta materia prima, por lo que no compite para su uso como precursor de biocarbón, que es una característica fundamental cuando se elige la biomasa de la cual se obtendrá el biocarbón (Luna *et al.*, 2007). Por último, la cáscara de coco tiene una estructura granular porosa, que le proporciona más espacio poroso y una mejor capacidad de retención de agua, reteniendo hasta 9 veces su peso en agua (Luna *et al.*, 2009), esto es un factor importante cuando se adiciona biocarbón al suelo, ya que en zonas áridas y semiáridas, cuando es tiempo de sequía, las plantas no tienen ningún aporte de agua, por lo que muchas especies no logran desarrollarse y algunas mueren, entonces al agregar biocarbón al suelo, su alta capacidad de absorción de agua le permite almacenar grandes cantidades de agua en el suelo para que queden disponibles como agua libre para el uso por parte de las plantas (López *et al.*, 2020). De Gryze *et al.*, (2010) mencionan que al aplicar biocarbón al suelo se puede aumentar su permeabilidad al agua, reduciendo la escorrentía y los costos de riego en los cultivos.

Se han realizado diversos estudios donde se han reportado resultados similares a los obtenidos en este estudio, con diversas especies vegetales y biocarbones obtenidos a partir de diversas biomásas. Nowab *et al.* (2018) estudiaron la influencia de tres enmiendas orgánicas (biocarbón, estiércol de granja y turba de musgo) a tasas de aplicación de 10, 20 y 50 g/Kg, combinadas con un suelo contaminado de residuos mineros, sobre la bioacumulación de As, Cd, Pb y Zn en plantas de chícharo (*Pisum sativum*) y chile (*Capsicum annuum*), reportando que los suelos con adición de biocarbón disminuyeron de manera más eficiente la biodisponibilidad de los metales que las otras dos enmiendas utilizadas, por lo que el biocarbón conduce una inmovilización y retención de metales en el suelo.

Por su parte, Chen *et al.* (2018) realizaron un meta-análisis del efecto del biocarbón en la biodisponibilidad de MP (Pb, Cd, Cu y Zn) y su absorción por plantas, reportando que el biocarbón redujo las concentraciones de Cd, Pb, Cu y Zn en un 38, 39, 25 y 17% respectivamente. Estos autores atribuyeron las disminuciones en la biodisponibilidad de los MP principalmente a la inmovilización de estas por parte de las partículas del biocarbón y en menor medida a los efectos indirectos del biocarbón en las propiedades del suelo.

En otro estudio, Lu *et al.* (2017) evaluaron el efecto de la aplicación de dos biocarbones obtenidos a partir de bambú y paja de arroz sobre la redistribución de Cd, Cu, Pb y Zn y su absorción en plantas de *Sedum plumbizincicola* crecidas en suelos contaminados por los metales mencionados anteriormente, con una aplicación de biocarbón del 1 y 5%, los tratamientos con biocarbón redujeron significativamente las concentraciones de metales en la fracción del suelo, siendo la tasa de aplicación al 5% donde se obtuvieron menores concentraciones de metales. Por su parte, en cuanto a la biodisponibilidad de metales, las plantas presentaron menores concentraciones de metales, siendo igualmente la tasa de aplicación al 5% donde hubo menores concentraciones en las plantas. En cuanto a la materia prima en la obtención de los biocarbones, el biocarbón de paja de arroz fue más eficaz en la inmovilización y redistribución de metales que el obtenido a partir de bambú. Así mismo reportaron que los grupos funcionales como hidroxilo, fenólico, carboxilo, presentes en los biocarbones

mostraron una adsorción de metales, demostrando que estos grupos funcionales forman complejos estables con MP, aumentando así su adsorción de los metales por parte de los biocarbones.

Por otro lado, Puga *et al.* (2015) evaluaron el efecto del biocarbón obtenido a partir de caña de azúcar en la movilidad de metales y su absorción en plantas (*Canavalia ensiformis* y *Mucana aterrima*) en un suelo contaminado por actividad minera. El biocarbón fue producido a 700°C y aplicado al suelo en 1.5, 3, y 5%, reportando que la aplicación de los biocarbones provocó una reducción de los metales en el suelo, siendo el 54, 50 y 57% para Cd, Pb y Zn respectivamente, a la dosis mal alta de biocarbón. Por su parte, las plantas que fueron cosechadas a los 60 días de exposición presentaron disminuciones 19 y 42% de Cd, 48 y 21% de Pb y 17 y 7% para Zn, en plantas de *C. ensiformis* y *M. aterrima* respectivamente. Los autores reportan que tal disminución de las concentraciones de metales en el suelo y plantas de debe a la retención de estos en la superficie del biocarbón, debido a la presencia de sitios de intercambio, ya que estos influyen en la capacidad de retención de metales y, por consiguiente, en su baja biodisponibilidad.

Asimismo, Melo *et al.* (2013) evaluaron la influencia de la temperatura de pirólisis de un biocarbón obtenido a partir de caña de azúcar en la absorción de Cd y Zn. Obtuvieron 4 biocarbones en diferentes temperaturas: 400, 500, 600 y 700°C, reportando que el biocarbón producido a 700°C aumento la adsorción de ambos metales cuatro veces más en comparación con el biocarbón producido a 400°C, atribuyendo estos resultados a la mayor superficie y a la alta porosidad del biocarbón formado a mayor temperatura.

Por su parte, Uchimiya *et al.* (2011) estudiaron biocarbones producidos a 200, 350, 500, 650 y 800°C para evaluar la capacidad de secuestrar Ni, Cu, Pb y Cd a partir de la biomasa de cáscaras de semillas de algodón, reportando que el suelo modificado con 10% de biocarbón producidos a temperaturas más altas (650 y 800°C) fueron los más eficaces para estabilizar Pb > Cd > Cu > Ni en ese orden, argumentando que los biocarbones producidos a altas temperaturas contienen grupos funcionales con alto contenido de oxígeno para estabilizar MP.

Por otro lado, Shen *et al.* (2016) evaluaron la influencia de un biocarbón obtenido a partir de rama de ramio producido a 450°C, sobre la bioacumulación de Cd y Pb en plantas de tabaco en aplicaciones de 0.5 y 1%, reportando que la bioacumulación de Cd y Pb en los tejidos de raíz, tallo y foliar disminuyeron sus concentraciones en un 52.3 y 58.5% para Cd y Pb respectivamente, siendo a la tasa de mayor aplicación (1%) donde se presentó la mayor disminución de metales en los tejidos de las plantas. Los autores mencionan que la aplicación de biocarbón inmoviliza eficazmente al Cd y Pb y podría utilizarse para enmendar suelos contaminados con estos metales.

Además, Zhang *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la aplicación de un biocarbón obtenido a partir de lodo de depuradora producido a 500°C, sobre el crecimiento y acumulación de Cd en plantas de arroz, a dosis de aplicación de 1.5 y 3 T/Ha, reportando que la acumulación de Cd en la raíz y tejido foliar disminuyó en ambos tejidos a las dos dosis aplicadas.

Por último, en un estudio realizado por Romero (2017) evaluó la eficiencia de un biocarbón obtenido a partir de excretas porcinas para inmovilizar Pb en un suelo contaminado en diferentes dosis de aplicación (5, 10 y 20%) sobre la acumulación en las raíces de lechuga (*Lactuca americana*). Dentro de los resultados encontraron una eficiencia de inmovilización de Pb de 35, 49 y 73% a las dosis de 5, 10 y 20% respectivamente, alcanzando una mayor eficiencia a la mayor aplicación de biocarbón (20%). En cuanto a la bioacumulación en la raíz, no se detectó Pb en este tejido analizado, concluyendo que el biocarbón tiene la capacidad de inmovilizar el Pb en el suelo y reducir su concentración en el agua intersticial, impidiendo que el metal sea absorbido por las plantas.

Se han descrito diversos mecanismos por el cual el biocarbón interacciona con los MP absorbiéndolos e inmovilizándolos para que no estén biodisponibles para las plantas. En este sentido Zhang *et al.* (2019) menciona que los grupos funcionales superficiales, especialmente hidroxilo, carboxilo y fenólico que contienen oxígeno, tienen una fuerte capacidad de sorción con contaminantes inorgánicos como los MP, siendo la complejación superficial, intercambio iónico y atracción electrostática los principales mecanismos. Por su parte, Xia *et al.*

(2018) mencionan que el biocarbón puede contener grupos hidroxilo, epoxi, carboxilo, quinolino, acilo, carbonilo, éter, grupos amino, éster y sulfónico. Siendo estos grupos funcionales como sitios de sorción para los cationes metálicos sobre la superficie del biocarbón (Guo *et al.*, 2020). Por otro lado, Romero (2017) menciona que el biocarbón contiene distintos grupos funcionales que aportan y benefician al suelo para inmovilizar o reducir la biodisponibilidad de MP en el suelo, denominando a estos grupos funcionales como especies quelantes, ya que permiten la formación de complejos solubles con iones metálicos, disminuyendo su toxicidad. Por otro lado, Lu *et al.* (2017) describe diversos mecanismos por los que los MP pueden ser absorbidos por el biocarbón, entre los que se encuentra, la formación de precipitados como los fosfatos, aumentos en las interacciones electrostáticas y el intercambio iónico entre los cationes metálicos y los protones del biocarbón. De la misma manera, Puga *et al.* (2015) describe que el biocarbón interactúa con los MP a través de interacciones electrostáticas entre cationes metálicos y la superficie del carbono con carga negativa e intercambio iónico entre protones ionizables en la superficie del carbono y los cationes metálicos. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, los grupos funcionales que contienen oxígeno en su estructura son el principal mecanismo de absorción con los MP, siendo la atracción electrostática y el intercambio iónico, los mecanismos más descritos por el cual el biocarbón retiene e inmoviliza a los MP

Por otro lado, con la adición de biocarbón, hay más carga negativa en la superficie del suelo debido a la disminución del potencial zeta y al aumento de la capacidad de intercambio catiónico, por lo tanto, habrá una mayor atracción electrostática entre los MP que tienen carga positiva y el biocarbón con carga negativa (Tang *et al.*, 2013). Con respecto a esto Chen *et al.* (2018) argumentan que con el envejecimiento del biocarbón, también se puede mejorar su capacidad para retener MP en el suelo, ya que el biocarbón con el tiempo se oxida, lo que promueve el aumento de los grupos carboxilo y la carga negativa neta, por lo tanto, puede haber un efecto a largo plazo del biocarbón sobre la estabilización de MP dependiendo de su persistencia en el suelo y el aumento de carga con el tiempo.

La temperatura de pirólisis es un factor esencial que se debe tener en cuenta para la función que se quiera tener con la adición de biocarbón al suelo, en este estudio, la función con la que se incorporó el biocarbón al suelo fue la de inmovilizar a los MP contenidos en el suelo para una menor absorción por parte de las plantas. En este sentido, Lehmann (2007) nos menciona que la temperatura óptima para un mejor rendimiento y aprovechamiento del biocarbón es entre las 450 y 550°C. Así mismo, Chen *et al.* (2018) mencionan que los biocarbones producidos a bajas temperaturas entre 450 y 550°C son los idóneos para reducir eficazmente la absorción de Cd, Pb, Cu y Zn por parte de las plantas, y también son más económicos con respecto al rendimiento y los costos de energía. Por su parte, Suliman *et al.* (2016) menciona que el biocarbón derivado a baja temperatura es rico en oxígeno y que contiene grupos funcionales que pueden complejar eficazmente con MP. Guo *et al.* (2020) reporta que el biocarbón producido a bajas temperaturas tiene áreas de superficie más bajas, pero contiene más grupos funcionales oxigenados. Resultados similares fueron los reportados por Melo *et al.* (2013) quien menciona que a medida que aumenta la temperatura de pirólisis, se produce una pérdida de grupos funcionales oxigenados. Igualmente, Tang *et al.* (2013) menciona que el aumento en la temperatura de pirólisis da lugar a un aumento en la superficie del biocarbón, pero una disminución en los grupos funcionales. Como podemos observar en los estudios anteriormente descritos, a mayor temperatura de pirólisis, se obtienen biocarbones con mayor área específica, sin embargo, se tiene menos grupos funcionales oxigenados, y viceversa, por lo que, en este sentido, Dong *et al.* (2013) y Ding *et al.* (2014) mencionan al respecto que, la estructura porosa y el área superficial del biocarbón, si bien promueven la absorción de MP por el biocarbón, estas propiedades parecen tener menos influencia en la absorción de MP que los grupos funcionales de superficie que contiene oxígeno. Por lo que el biocarbón producido entre 450 y 550°C parece ser el mejor biocarbón para reducir la movilidad de los MP y reducir su absorción por parte de las plantas.

Por otro lado, otro aspecto del biocarbón que parece tener influencia, aunque en menor medida con respecto a los mecanismos mencionados anteriormente, son

los componentes que puede contener la biomasa de la cual se produce el biocarbón, en este sentido, Xu *et al.* (2014) mencionan que los componentes minerales del biocarbón también desempeñan un papel importante en el proceso de sorción. Por ejemplo, el carbonato de calcio y el anión fosfato originados a partir de la materia prima en algunos biocarbones sirven como sitios de sorción adicionales a los mencionados anteriormente contribuyendo a una alta capacidad de absorción de MP (Zhang *et al.*, 2019). Por otro lado, Lucchini *et al.* (2014) mencionan que algunos MP como el Cd y Pb se pueden absorber fuertemente en la superficie del biocarbón y podrían formar complejos con el bicarbonato orgánico disuelto contenido en el biocarbón, lo que también ayudaría a contribuir en la inmovilización de estos MP.

De acuerdo con los reportes mencionados anteriormente, los mecanismos por los cuales el biocarbón absorben e inmovilizan mayormente a los MP son a través de la complejación con los grupos funcionales oxígenos contenidos en la superficie del biocarbón, siendo las interacciones electrostáticas y el intercambio iónico, los mecanismos más importantes, en cuestión de inmovilizar MP por parte del biocarbón.

### **8.3 Influencia del biocarbón sobre la biomasa en *Crotalaria pumila* y *Sanvitalia procumbens***

Para *Crotalaria pumila*, de manera general, hubo un efecto positivo en los tratamientos con biocarbón con respecto al tratamiento sin biocarbón, sobre los cuatro caracteres analizados: Peso fresco de raíz (PFR), peso seco de raíz (PSR), peso fresco foliar (PFH) y peso seco foliar (PSH), siendo los individuos crecidos en los tratamientos con diferentes proporciones de biocarbón los que presentaron mayores pesos con respecto a los individuos crecidos sin adición de biocarbón, específicamente los individuos de los tratamientos dos y tres (12.5% y 25% de biocarbón respectivamente) fueron los que presentaron mayor biomasa.

Por su parte, con respecto al tiempo de exposición, de manera general no hubo efecto del tiempo de exposición sobre los caracteres morfológicos estudiados, esto para todos los tratamientos.

Con respecto a *Sanvitalia procumbens*, de igual forma que para *C. pumila*, hubo un efecto de los tratamientos con biocarbón con respecto al tratamiento sin biocarbón, sobre los caracteres morfológicos estudiados (PFR, PSR, PFH y PSH), siendo los individuos crecidos en los diferentes tratamientos con biocarbón los que presentaron mayores pesos frescos y secos tanto de raíz como foliar con respecto a los individuos crecidos en el tratamiento uno (0% biocarbón) siendo los individuos del tratamiento tres (12.5% biocarbón) los que presentaron mayor biomasa con respecto a los otros dos tratamientos con biocarbón.

Por su parte, con respecto al tiempo de exposición, de manera general, hubo un efecto del tiempo de exposición sobre los cuatro caracteres analizados para los cuatro tratamientos, siendo los individuos de los últimos tiempos de exposición los que presentaron mayor biomasa fresca y seca tanto de raíz como foliar, con respecto a los individuos de los primeros tiempos de exposición.

Se han reportado resultados similares, donde el biocarbón, ha tenido un efecto sobre el crecimiento y biomasa de las plantas, cuando estas son crecidas en suelos contaminados por MP agregando biocarbón, con respecto a plantas crecidas en suelos contaminados sin agregación de biocarbón. En este sentido, Nawab *et al.* (2018) reportó que las plantas de chícharo (*Pisum sativum*) y chile (*Capsicum annuum*) presentaron mayor biomasa de raíz y foliar cuando las plantas fueron crecidas con adición de biocarbón, con respecto a las plantas sin adición de biocarbón. Por su parte, Lu *et al.* (2014) reportaron que las plantas de *Sedum plumbizincicola* crecidas en suelo con adición de biocarbón, presentaron mayor crecimiento y por consecuencia, mayor biomasa de raíz, con respecto a las plantas crecidas en suelo sin adición de biocarbón. Además, Puga *et al.* (2015) reportaron que las de *Canavalia ensiformis* y *Mucana aterrima* presentaron mayor crecimiento cuando las plantas fueron crecidas con adición de biocarbón, con respecto a las plantas testigo (sin biocarbón). De igual



manera, Shen *et al.* (2016) reportaron que las plantas de tabaco aumentaron sus pesos secos de raíces, tallos reportaron que las plantas de tabaco aumentaron sus pesos secos de raíz, tallo y foliar cuando las plantas fueron crecidas en suelos adición de biocarbón, con respecto a las plantas testigo (sin adición de biocarbón). Por último, Zhang *et al.* (2016) reportaron que las plantas de arroz fueron estadísticamente más grandes cuando crecieron en suelo con agregación de biocarbón, aumentando su biomasa seca con respecto a las plantas que crecieron con adición de biocarbón.

Como se muestra en los estudios anteriores, el biocarbón tiene un efecto positivo sobre el crecimiento y biomasa de las plantas cuando son crecidas en suelos contaminados con MP con adición de biocarbón, por lo que se pueden proponer dos mecanismos por el cual el biocarbón mejora el crecimiento y biomasa de las plantas: 1) la aplicación de biocarbón por si misma agrega nutrientes al suelo, mejorando la disponibilidad de los mismos y mejora la capacidad de retención de agua (Lehmann, 2007; Smider y Shing, 2014; Zhang *et al.*, 2016; Nawab *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2020). Por su parte, López *et al.* (2020) mencionan que el biocarbón puede incrementar la fertilidad de los suelos debido a su alto contenido de M.O. carbonizada que favorece la absorción de diversos nutrientes como N, P, K y Ca. Y el segundo mecanismo; 2) el biocarbón disminuye la biodisponibilidad de MP al formar complejos con los iones metálicos en su superficie, reduciendo la toxicidad de los MP en las plantas, mejorando su crecimiento (Puga *et al.*, 2015; Lebrun *et al.*, 2017). Por otro lado, Uchimiya *et al.* (2011) reportaron que el biocarbón estabilizó MP y asimismo ocurrió una liberación de nutrientes como el Na, Ca, K, Mg, P y S que contienen tanto el suelo como en biocarbón. Por lo tanto, el utilizar la enmienda del biocarbón para inmovilizar MP, puede dar estas dos funciones al mismo tiempo, tanto reducir la biodisponibilidad de los MP como ayudar a la planta a su desarrollo óptimo incrementando la biodisponibilidad de nutrientes.

## 9. Conclusiones

- Se determinó que las plantas que crecieron en sustrato jale combinado con biocarbón tuvieron un mayor crecimiento en cuanto a biomasa fresca y seca de raíz y biomasa foliar en ambas especies vegetales comparadas con las plantas que crecieron en sustrato jale sin biocarbón, siendo la proporción 12.5% y 25% de biocarbón en sustrato jale las más eficientes para el crecimiento de ambas especies de estudio (*Crotalaria pumila* y *Sanvitalia procumbens*).
- La adición de biocarbón a sustrato jale redujo la biodisponibilidad de metales pesados, dado que la adición de la proporción mayor de biocarbón resultó en una menor absorción de metales por parte de *Crotalaria pumila* y *Sanvitalia procumbens* (50% y 25% de biocarbón respectivamente).
- Ambas especies vegetales (*C. pumila* y *S. procumbens*) tuvieron un factor de translocación menor a 1, por lo que son aptas para ser utilizadas en procesos de fitoestabilización de metales pesados.
- La combinación de biocarbón (obtenido a partir de cáscara de coco) con las especies vegetales *Crotalaria pumila* y *Sanvitalia procumbens* resultó ser eficiente en la inmovilización de metales pesados en el suelo, y por consecuencia, en una reducción en la absorción de estos y un mayor crecimiento por parte de las plantas.

## 10. Perspectivas

- Realizar otras mediciones en la caracterización fisicoquímica del biocarbón, por ejemplo, la cuantificación de micronutrientes (sodio, potasio, calcio y magnesio), porcentaje de humedad, retención de agua y fotografías de microscopía electrónico de barrido.
- Utilizar especies de arbustos o árboles para dar mayor seguimiento en el tiempo para analizar las ventajas de la adición de biocarbón en un tiempo más prolongado de experimentación.
- Utilizar especies de uso comestible para determinar la influencia del biocarbón sobre la bioacumulación de metales pesados en todos sus tejidos (raíz, tallo, hojas, flor y fruto).
- Realizar estudios *in situ* para evaluar cómo se comporta el biocarbón en la inmovilización y absorción de metales pesados por parte de las plantas en un ambiente natural.

## 11. Literatura Citada

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

Abreu, M., y Magallanes, M. (2009). Phytostabilization of soils in mining areas. Case studies from Portugal. *Soil remediation*, 7, 297-344.

Angelova V., Ivanov K. y Ivanova R. (2004). Effect of chemical forms of lead, cadmium, and zinc in polluted soils on their uptake by tobacco. *Journal Plant Nutrition*, 27, 757-773.

Aran, D. (2017). Recuperación de suelos contaminados con aniones potencialmente tóxicos y metales pesados mediante tecnosoles y biocarbonos adsorbentes. Tesis de doctorado. Universidad de Santiago de Compostela.

Baker, J. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy-metals. *Journal Plant Nutrition*, 3, 643-654.

Cabrera, F. (2005). Estabilización de suelos contaminados: el caso de Aznalcóllar. *Tecnologías aplicables a la reutilización de los residuos orgánicos, agrícolas o alimentarios*. Universidad de Burgos.

Cámara Minera de México (2013). Informe Anual. <https://camimex.org.mx/index.php/publicaciones/informe-anual> consultada en marzo del 2019).

Carpena, O. y Bernal, P. (2007). Claves de la fitorremediación: Fito tecnologías para la recuperación de suelos. *Revista Ecosistemas*, 16, 1-3.

Castañeda, J. (2016). Estudio ecotoxicológico de los jales mineros de Huautla, Morelos: El caso de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth. (Fabaceae). Tesis de Maestría en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Chen, D., Liu, X., Bian, R., Cheng, K., Zhang, X., Zheng, J. y Li, L. (2018). Effects of biochar on availability and plant uptake of heavy metals—A meta-analysis. *Journal of environmental management*, 222, 76-85.

Cho-Ruk, J., Kurokote, P. y Supprung, S. (2006). Perennial plants in phytoremediation of contaminated soils lead. *Biotechnology*, 5, 1-4.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de La Biodiversidad (CONABIO). (2009). *Malezas de México. Sanvitalia procumbens Lam.* <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/sanvitaliaprocumbens/fichas/ficha.htm> (consulta en febrero del 2019).

- Del Pilar Ortega, M., Xoconostle, B., Maldonado, I., Carrillo, R., Hernández, J., Garduño, D. y Gonzáles, M. (2010). Plant and fungal biodiversity from metal mine wastes under remediation at Zimapán, Hidalgo, Mexico. *Environmental Pollution*, 150, 1922-1931.
- Ding, W., Dong, X., Mandu, I., Gao, B. y Ma, L. (2014). Pyrolytic temperatures impact lead sorption mechanisms by bagasse biochars. *Chemosphere*, 105, 68-74.
- Dong, X., Lena, Q., Zhu, Y., Li, Y. y Gu, B. (2013). Mechanistic investigation of mercury sorption by brazilian pepper biochar of different pyrolytic temperatures based on X-ray photoelectron spectroscopy and Flow calorimetry. *Environmental Science and Technology*, 47, 12156-12164.
- Dorado, O., Maldonado, D., Arias, V., Sorani, R. y Valenzuela, D. (2005). *Programa de conservación y manejo de la reserva de la biosfera Sierra de Huautla*. Comisión Nacional de Areas Naturales Protegidas, México. 207.
- Escalante, A., Pérez, G., Hidalgo, C., López, G., Campo, J., Valtierra, E. y Etchevers, J. (2016). Biocarbón (biochar): Naturaleza, historia y fabricación y uso en el suelo, *Terra Latinoamericana*, 34, 367-382.
- Erakhrumen, A. (2007). Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. *Educational Research and Review*, 2, 151-156.
- Espinosa G. y Sarukhán, J. (1997). *Manual de malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones*. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Fuentes, A. (2017). Bioacumulación y análisis de la estructura y diversidad genética de *Prosopis laevigata* por exposición a metales en Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura en Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Galán, E. y Romero, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *Macla*, 10, 48-60.
- García, I. y Dorronsoro, C. (2005). *Contaminación por metales pesados: Tecnología de suelos*. Universidad de Granada. España. Departamento de Edafología y Química Agrícola.
- Gold, K., León-Lobos, P. y Way, M. (2004). Manual de recolección de semillas de plantas silvestres. *Boletín INIA*, 110, 33-35.

- Góngora, J. (2013). Evolución reciente de la minería en México. *Comercio Exterior*, 63, 4-7.
- González, C. y González, M. (2006). Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution*, 144, 84-92.
- González, D y Zapata, O. (2008). Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana*, 82, 41-49.
- González, M. (1997). Respuesta vegetal al estrés metálico. *Agricultura Técnica*, 51, 42-49.
- Guo, X., Liu, H. y Zhang, J. (2020). The role of biochar in organic waste composting and soil improvement: A review. *Waste Management*, 102, 884-899.
- Hernández, E., Mondragón, E., Cristóbal, D., Rubiños, J. y Robledo, E. (2009). Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jale de Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15, 109-114.
- Hernández, B. (2014). Análisis de la anatomía y morfología de *Prosopis laevigata*, por acumulación de metales pesados en la sierra de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, UAEM.
- Huang, H., Yao, W., Li, R., Ali, A., Du, J., Guo, D. y Awasthi, M. (2018). Effect of pyrolysis temperature on chemical form, behavior and environmental risk of Zn, Pb and Cd in biochar produced from phytoremediation residue. *Bioresource technology*, 249, 487-493.
- Ibarra, A. (2011). Caracterización de ácidos orgánicos de bajo peso molecular presentes en exudados radiculares de *Zea mays*: aplicaciones para la remediación de suelos contaminados por metales pesados. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). (2015). *La minería en México*. <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/secundario/mineria/default.aspx?tema> (consulta en febrero del 2019).
- Kidd, S., Castro, B., Lestón, G. y Monterroso, C. (2007). Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Revista Ecosistemas*, 16, 26-46.
- Lebrun, M., Macri, C., Miard, F., Hambli, N., Henio, M., Morabito, D. y Bourgerie, D. (2017). Effect of biochar amendments on As and Pb mobility and

phytoavailability in contaminated mine technosols phytoremediated by *Salix*. *Journal of Geochemical Exploration*, 182, 149-156.

Lee, Y., Park, J., Ryu, C., Gang, K., Yang, W., Park, Y. y Hyun, S. (2013). Comparison of biochar properties from biomass residues produced by slow pyrolysis at 500 C. *Bioresource Technology*, 148, 196-201.

Lehmann, J. (2007). Bio-energy in the black. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5, 381-387

Llugany, M., Tolrá, R., Poschnrieder, C. y Barceló, J. (2007). Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y para el hombre? *Revista Ecosistemas*, 16, 4-9.

Londoño, L., Londoño, P. y Muñoz, F. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14, 145-153.

López, M., Soledad, B., Echezuria, H. y Delgado, J. (2020). Evaluación de las características físicas del biocarbón obtenido por el Centro de Investigación de ingeniería de la UCAB. *Tekhné*, 23, 42-51.

López, S., Gallegos, M., Pérez, F. y Gutiérrez, R. (2005). Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21, 91-100.

Lu, H., Li, Z., Fu, S., Méndez, A., Gascó, G., y Paz-Ferreiro, J. (2014). Can biochar and phytoextractors be jointly used for cadmium remediation?. *Plos One*, 9, 46-53.

Lu, K., Yang, X., Shen, J., Robinson, B., Huang, H., Liu, D., Bolan, N., Pei, J. y Wang, H. (2014). Effect of bamboo and rice straw biochars on the bioavailability of Cd, Cu, Pb and Zn to *Sedum plumbizincicola*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 191, 124-132.

Lu, K., Yang, X., Gielen, G., Bolan, N., Ok, Y., Niazi, N. y Liu, D. (2017). Effect of bamboo and rice straw biochars on the mobility and redistribution of heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in contaminated soil. *Journal of environmental management*, 186, 285-292.

Lucchini, P., Quilliam, R., DeLuca, T., Vamerali, T. y Jones, D. (2011). Increased bioavailability of metals in two contrasting agricultural soils treated with waste wood-derived biochar and ash. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 3230-3240.

Luna, D., González, A., Gordon, M. y Martí, N. (2007). Obtención de carbón activado a partir de la cáscara de coco. *ContactoS*, 64, 39-48.

Ma, L., Xu, R. y Jiang, G. (2010). Adsorption and desorption of Cu (II) and pb (II) in paddy soils cultivated for various years in the subtropical China. *Journal Environmental Science*, 22, 689-695.

Maldonado, B. (1997). Aprovechamiento de los recursos florísticos en la Sierra de Huautla, Morelos. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.

Martínez, E. (2013). Ojo de gallo (*Sanvitalia procumbens*). *Plantas Medicinales de México*. <http://plantasdemexico.blogspot.mx/2013/03/ojo-de-gallo-sanvitalia-procumbens.html> (consulta en marzo del 2019)

Marrero, J., Amores, I. y Coto, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46, 52-61.

Medel, A., Ramos, S., Avelar, F., Mora, A. y Rodríguez, F. (2008). Caracterización de jales mineros y evaluación de su peligrosidad con base en su potencial de lixiviación. *Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 35, 32-35.

Mejía, M. (2011). Metales pesados en suelos y plantas: contaminación y fitotoxicidad. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. <https://es.scribd.com/doc/204360496/METALES-PESADOS-EN-SUELOS-Y-PLANTAS-CONTAMINACION-Y-FITOTOXICIDAD> (consulta en febrero del 2019).

Melo, L., Coscione, A., Abreu, C., Puga, A. y Camargo, O. (2013). Influence of temperature on cadmium and zinc sorption capacity of sugar cane straw-derived biochar. *Bioresources*, 8, 4992-5004.

Molina, T., Ibáñez, C. y Gibón, M. (2012). Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago Hiperharino (Poopó, Ororo, Bolivia): posible riesgo en la salud de los consumidores. *Ecología en Bolivia*, 47, 99-118.

Moreno, E. (1984). *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. México. Instituto de Biología, UNAM. 169-215

Mussali, P., Tovar, E., Valverde, M. y Rojas, E. (2013). Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 117-140.

Murillo, A. (2015). Detección de daño genotóxico en *Prosopis laevigata* de los jales de la Sierra de Huautla, Morelos, México provocado por metales pesados.



Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Muro, D., Mussali, P., Valencia, L., Flores, K., y Tovar, E. (2020). Morphological, physiological, and genotoxic effects of heavy metal bioaccumulation in *Prosopis laevigata* reveal its potential for phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 40187-40204.

Navarro, A., Alonso, I. y López, M. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Ecosistemas*, 16, 10-25.

Nawab, J., Ghani, J., Khan, S., y Xiaoping, W. (2018). Minimizing the risk to human health due to the ingestion of arsenic and toxic metals in vegetables by the application of biochar, farmyard manure and peat moss. *Journal of environmental management*, 214, 172-183.

Noguez, A., Lopez, A., Carrillo, R. y Gonzales, M. (2017). Uso de leguminosas (Fabaceae) en Fitorremediación. *Agroproductividad*, 10, 57-62.

NORMA OFICIAL MEXICANA.NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

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

Ortíz, M., Sanchez, E. y Gutierrez, M. (1993). ANÁLISIS DE SUELOS. Fundamentos y técnicas parte I. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Ortíz, M., Sanchez, E. y Gutierrez, M. (1993). ANÁLISIS DE SUELOS. Fundamentos y técnicas parte II. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Pérez, A., Céspedes, C., y Núñez, P. (2008). Caracterización física-química y biológica de enmiendas orgánicas aplicadas en la producción de cultivos en República Dominicana. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8, 10-29.

Puentes, L. y Joya, E. (2005). Reconocimiento de características, obtención y utilización de la estopa de coco. [Breve reseña del cocotero \(artesanasdecolombia.com.co\)](http://artesanasdecolombia.com.co) (consultada en abril 2020).

Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C. y Campos, A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada*, 5, 149-155.

Puga, A., Abreu, C., Melo, L. y Beesley, L. (2015). Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium. *Journal of environmental management*, 159, 86-93.

Prieto, M., González, R., Román, G. y Prieto, G. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10, 29-44.

Ramos, A., Prol, L. y Siebe, G. (2004). Características geológicas y mineralógicas e historia de extracción del Distrito de Guanajuato, México. Posibles escenarios geoquímicos para los residuos mineros. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 21, 268-284.

Rodríguez, S., Martínez, C., Romero, P., Del Río, L. y Sandalio, L. (2008). Toxicidad del cadmio en plantas. *Revista Ecosistemas*, 17, 139-146.

Romero, F., Armienta, M., Gutiérrez, M. y Villaseñor, G. (2008). Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24, 43-54.

Romero, J. (2017). Eficiencia en la inmovilización de plomo en el suelo mediante la aplicación de cantidades de biocarbón en el Distrito San Mateo, Lima. Tesis de Licenciatura. Universidad César Vallejo.

Romero, M. y Gutiérrez, M. (2010). Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 64, 43-53.

Rosas, M. (2018). Relación entre la bioacumulación de metales pesados y la concentración de clorofila en *Sanvitalia procumbens*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Rog, Y., Jeong, K., Tae, S., Jae, E., Gary, O. y Kwno, R. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 37, 1041-1061.

Rzedowski, J. (2006). Bosque Tropical Caducifolio. En: *Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*. México. 505 p.

Rzedowski, G. y Rzedowski, J. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

SAGAR. (2010). *Flora Nectararia y Polinifera en el Estado de Chiapas*. <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Flora%20nectarfera%20y%20polinifera%20de%20Chiapas/Attachments/8/chis8.pdf> (consulta en febrero del 2019).

Sánchez, A., Gonzales, M. y Carrillo, R. (2017). Absorber, inmovilizar o atrapar: funciones de las plantas en la remediación de sitios contaminados por elementos potencialmente tóxicos. *Agroproductividad*, 10, 80-86.

Sánchez, A., Thijs, S., Becjers, B., Gonzales, M., Weyens, N. y Carrillo, R. (2018). Community structure and diversity of endophytic bacteria in seeds of three consecutive generations of *Crotalaria pumila* growing on metal mine residues. *Plant and Soil*, 422, 51-66.

Santos, E., Abreu, M., Macías, F. y Varennes, A. (2014). Improvement of chemical and biological properties of gossan mine wastes following application of amendments and growth of *Cistus ladanifer* L. *Journal Geochemical Exploration*, 147, 173-181.

Santoyo, M. (2020). Potencial de fitorremediación de *Crotalaria pumila* (Fabaceae) en suelos contaminados por metales pesados. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Santoyo, M., Mussali, P., Hernández, I., Valencia, L., Flores, A., Ortiz, L. y Tovar, E. (2020). Heavy metal bioaccumulation and morphological changes in *Vachellia campechiana* (Fabaceae) reveal its potential for phytoextraction of Cr, Cu, and Pb in mine tailings. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 11260-11276.

Secretaría de Economía. (2018). Panorama Minero del Estado de Morelos. Servicio Geológico Mexicano.

Secretaría de Economía. (2017). La minería. <http://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/mineria> (consulta en febrero del 2018).

SEMARNAT. Secretaría del medio ambiente y recursos naturales. 2004. Dirección general del centro nacional de investigación y capacitación ambiental. Dirección de investigación en residuos peligrosos y proyectos regionales. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Tania, L.

SEMARNAT. Secretaria del medio ambiente y recursos naturales. 2005. Dirección de investigación en residuos y sitios contaminados. Subdirección de investigación en sitios contaminados y sustancias tóxicas. Informe anual de actividades. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Etapa II.

Shen, X., Huang, D., Ren, X., Zhu, H., Wang, S., Xu, C., He, Y., Luo, Z. y Zhu, Q. (2016). Phytoavailability of Cd and Pb in crop straw biochar-amended soil is related to the heavy metal content of both biochar and soil. *Journal of Environmental Management*, 168, 245-251.

Shi, G., Xia, S., Liu, C. y Zhang, Z. (2016). Cadmium accumulation and growth response to cadmium stress of eighteen plant species. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 23071-23080.

Smider, B. y Shing, B. (2014). Agronomic performance of a high ash biochar in two contrasting soils. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 191, 99-107.

Solis, M. (2016). Aislamiento de bacterias de jales mineros y análisis de su potencial para la remediación de sitios contaminados con metales pesados. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Soria, L. (2016). Producción y evaluación de biocarbón para la absorción de sodio en suelos salinos. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional.

Spain, A. y Alm, E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment. *Reviews in Undergraduate Research*, 2, 1-6.

Suliman, W., Harsh, J., Abu, N., Fortuna, A., Dallmeyer, I. y García, M. (2016). Influence of feedstock source and pyrolysis temperature on biochar bulk and surface properties. *Biomass Bioenergy*, 84, 37-48.

Tang, J., Zhu, W., Kookana, R y Katayama, A. (2013) Characteristics of biochar and its application in remediation of contaminated soil. *Journal of bioscience and bioengineering*, 116, 653-659.

Tovar, R., Barbanson, L. y Careño, O. (2009). Neoformación mineralógica en residuos mineros (jales) del distrito minero Zimapán, estado de Hidalgo, México. *Minería y Geología*, 25, 5-8.

Uchimiya, M., Lima, I., Klasson, k. y Wartelle, L. (2010). Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: roles of natural organic matter. *Chemosphere*, 80, 935-940.

Uchimiya, M., Wartelle, L., Klasson, K., Fortier, C. y Lima, I. (2011). Influence of pyrolysis temperature on biochar property and function as a heavy metal sorbent in soil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59, 2501-2510.

Uchimiya, M., Chang, S. y Klasson, K. (2011). Screening biochars for heavy metal retention in soil: role of oxygen functional groups. *Journal of Hazardous Materials*, 190, 432-441.

Valles, C. y Alarcón, T. (2008). Estabilización química de suelos contaminados con metales pesados. *I Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos*. Chihuahua, Chihuahua, México.

Velasco, J. y Volke, S. (2003). El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *Gaceta Ecológica*, 66, 41-5.

Velasco J., Volke S., De la Rosa, P. y Solórzano O. (2004). *Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales*. SEMARNAT-INE. Dirección de Investigación en residuos y proyectos regionales. Primer informe. México.

Xia, X., Chen, B., Chen, Z., Zhe, L. y Schnoor, J. (2018). Insight into multiple and multilevel structures of biochars and their potential environmental applications: a critical review. *Environmental Science and Technology*, 52, 5027-5047.

Xu, D., Zhao, Y., Sun, K., Gao, B., Wang, Z., Jin, J., Zhang, Z., Wang, S., Yan, Y., Liu, X. y Wu, F. (2014). Cadmium adsorption on plant and manure derived biochar and biochar amended sandy soils.: impact of bulk and surface properties. *Chemosphere*, 111, 320-326.

Xu, X. Cao, X. y Zhao, L. (2013). Comparison of rice husk and dairy manure derived biochars for simultaneously removing heavy metals from aqueous solutions: role of mineral components in biochars. *Chemosphere*, 92, 955-961.

Yuan, J., Xu, R. y Zhang, H. (2011) The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresource Technology*, 102, 3488-3497.

Zhang, Y., Chen, T., Lian, Y., Reid, B., Chi, H., Hou, Y. y Cai, C. (2016). Modest amendment of sewage sludge biochar to reduce the accumulation of cadmium into rice (*Oryza sativa* L): A field study. *Environmental Pollution*, 216, 819-825.

Zhang, C., Zeng, G., Huang, D., Lai, C., Chen, M., Cheng, M., Tang, W., Tang, L., Dong, H. y Wang, R. (2019). Biochar for environmental management: Mitigating greenhouse gas emissions, contaminant treatment and potential negative impacts. *Chemical Engineering Journal*, 373, 902-922.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 09 de marzo del 2021.

### COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante (director de tesis CEIB, UAEM)

Dr. Efraín Tovar Sánchez (codirector de tesis CIByC, UAEM)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (CEIB, UAEM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB, UAEM)

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (CEIB, UAEM)

Tesis: **"Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica"**.

Alumno que lo presenta a revisión: **Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

**APROBADO**

ATENTAMENTE

---

DRA. PATRICIA MUSSALI GALANTE



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**PATRICIA MUSSALI GALANTE** | Fecha:2021-03-18 12:12:47 | Firmante

Ov7wQhRxXTC2r62axN4u0J0xfv7wqWUT2B/LaOxP3hCWu0TgEcZPFQs6NTx/nsXgQPSXDOeAf5uSxaw5pciIFtJ5w2dR2Li3VjWhtGrsoU0teratzQaRWQ4Qat1hrE80UXUEmmZcVzn3nksZfrwvWjRmFYI6p3gr3AkhxWtoazPO2wbydScOd+icosGMqQLUfu/kX8O5h4L+yomjupC/hGRFMxhfikOQI1Snvbn45Xb3wfbhV6qvJIKIOWkEeP4i5XnYVHxvBK1oNVPwaGgY0Q2APCdDOGvxP6ttApt5v3ZuFTUdO6n9Oc35EpGhdLCzqx5ZbFu7CnyrsGnbr1/g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[EnScvF](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ICVkjy2Oa59hDKTnwmUH9lg6e5xnS>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 09 de marzo del 2021.

### COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante (director de tesis CEIB, UAEM)

Dr. Efraín Tovar Sánchez (codirector de tesis CIByC, UAEM)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (CEIB, UAEM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB, UAEM)

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (CEIB, UAEM)

Tesis: **"Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica"**.

Alumno que lo presenta a revisión: **Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

**APROBADO**

ATENTAMENTE

---

DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**EFRAIN TOVAR SANCHEZ** | Fecha:2021-03-18 11:13:22 | Firmante

JoiTvgI1g2zh8q/Eqy2WGVutLSH0X9smGtN88RPAzS1j3+/kNPOTQTBRFylu6XF61/ZSsuwEPD+Ax2INM/ujv02zOC3I7M1Hq1qHihYIfEPK4EIXYS/3phocOrPbpCYpnc75Jhn3CvD7c4j4CzJN7X5dmGjGBD8LjiiINS0PHToLTZ7K5NZ7Ngv7Q2OPNIKj7dxCBx1K7PmHb/ghxgE2/3WbkliTzS9Z7xJn6hT9u/uag+MGiniU6uTY+jjVW6gfVY+hpUpiYpJlo543B3zBvUi20jkN8gR5J4jX9BMLqaaqMyV82yM8ZNLfs/wMlma0v9qO4gl4xtOGsYvDLTeUAJHg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[msdFRr](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hftwVRQMO8eXfIStzHF8ryRX0rKFCjN>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 09 de marzo del 2021.

### COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante (director de tesis CEIB, UAEM)

Dr. Efraín Tovar Sánchez (codirector de tesis CIByC, UAEM)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (CEIB, UAEM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB, UAEM)

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (CEIB, UAEM)

Tesis: **"Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica"**.

Alumno que lo presenta a revisión: **Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

**APROBADO**

ATENTAMENTE

---

DR. RAMÓN SUÁREZ RODRÍGUEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**RAMON SUAREZ RODRIGUEZ | Fecha:2021-03-19 20:18:49 | Firmante**

umxMZ/GWsQLEGzC08dAg4RQOrwQjOmQ3n4nauMD3CRWalJbvfh/73GO6frmAKEIADPmAbvhdYOMkS+tj/N8DRncNVnGC4+qSf9mXd4qORU6KE5QrEur9WLn9IEChAoMY  
Fif08qS03cD4OagTD4qlptt0NH900K9EunE1K/to/Tx+UBMS7XSQRiPjc4CwVlccKRo8y10aXxJwsWfkRQs+TRnPPtuWQEB35WvJRQ+tLcJvfWrRz55y4CRR1JPtGOxGMAb1LiTJz  
mCQvoEj4rq6iYAuLHQ8fNh8gNTGIS0/8hoV0YLGyF/dbn8Ry26sEuPcEqWUVf3Vgw7A1s+LAeAig==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



605dMc

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/7u2tnAEOuOI9Wp5rNjeAqJ2hMRPInYs7>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 09 de marzo del 2021.

### COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante (director de tesis CEIB, UAEM)

Dr. Efraín Tovar Sánchez (codirector de tesis CIByC, UAEM)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (CEIB, UAEM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB, UAEM)

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (CEIB, UAEM)

Tesis: **"Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica"**.

Alumno que lo presenta a revisión: **Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

**APROBADO**

ATENTAMENTE

\_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ AUGUSTO RAMÍREZ TRUJILLO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

JOSE AUGUSTO RAMIREZ TRUJILLO | Fecha:2021-03-18 13:32:10 | Firmante

TA446H0jHx3nkH2D/Ochyd8OVO6sly63KtIbEiWd88UdXkp6XQjAwtGBLfdgBQN4nzDo87+9fEflCPn8qDZF8XeOjsqU57xg1teabaqkK11EQHjWo3iSS/7yEBJURomo8Hlsdgxkoj1  
OmxznDHvsXITYxmgVqvWa6AisNIMJxN4u6TdTp57IE5USOUivQsuevcsTXayNumLLEdONTXctFq2H21EJY0ntSpvVeuzt84N1RJ7Qd4OcSfjwFeQxkLL3T8JNIGrbTFGF5ts6HB  
ktq/tSdoZeB5+BAuFKu7MbGmgjd+qFOPotPI4t1IHYzexc7BzOvJ30uCEZ6sw2mwPg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[aq1mck](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/kokzPINqx1cH9Ui2bCSEdQlb4mZ7kh17>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 09 de marzo del 2021.

### COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante (director de tesis CEIB, UAEM)

Dr. Efraín Tovar Sánchez (codirector de tesis CIByC, UAEM)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (CEIB, UAEM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB, UAEM)

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (CEIB, UAEM)

Tesis: **"Fitoestabilización de metales pesados provenientes de jales mineros utilizando biocarbón como enmienda orgánica"**.

Alumno que lo presenta a revisión: **Marcos Eduardo Rosas Ramírez**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

**APROBADO**

ATENTAMENTE

---

DR. ALEXIS JOAVANY RODRÍGUEZ SOLÍS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ALEXIS JOAVANY RODRIGUEZ SOLIS | Fecha:2021-03-18 13:35:21 | Firmante**

u9g8n0wJf0MkJCFVZWSfEb6AAcFC/DgPAgiAzl5m7+LfxmKsb8v+nMT3Ht22+SSF4KXNqWjil2Ar/wMcF9gDqTOn/vICEbIAFL+SDqw+LKgvQCBnnYiy0lbQ4YIhofZXTo/VrAKhaL  
oxr6W+HDSv/OGxm/aRrFD3UzLfrGOVE8ZNKUYxt4huR4zKWbOBxb0oaWERx6zW0BAS2OuFmZks1ag1egxoM8bO10ZWQBRFeogOwCzy++jQYVg5Q4+0pAtc8cCfxG1sf4o  
MkZPuKOVns/q623/QE2HASn70J+Me0h9vDoq1bkVcZEmhV1HWEiHwGbpGa0nR1lg3oniy/IQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



7pflkL

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Vush8UOZI6gi6i4csrEtsToBSmW0S8Rm>

