

T
1006

 XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

61389



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACIÓN
ARCHIVO HISTÓRICO

Casa abierta al tiempo

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**"Caracterización de suelos mineros y micorriza
arbuscular en una zona de yacimientos y
extracción de manganeso en Nonoalco en el
estado de Hidalgo, México".**

TESIS

(Idónea Comunicación de Resultados)

**Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA

Lucía Victoria Juárez Vázquez

COMITÉ TUTORAL:

Director:

Dr. Facundo Rivera Becerril

Asesor:

Dr. Gilberto Vela Correa

Asesor:

Dr. Otilio A. Acevedo Sandoval

México, D. F. Septiembre 2010



XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACIÓN
ARCHIVO HISTÓRICO

Agradecimientos

Dr. Facundo Rivera Becerri, Dr. Gilberto Vela Correa, Dr. Otilio A. Acevedo Sandoval, Dr. Enrique Cruz Chávez, por su apoyo en la ejecución de este proyecto de investigación, sin su ayuda esto no hubiera sido posible.

Dr. Hugo Ramírez Saad por haber aceptado participar como miembro del jurado.

Mis profesores de la Maestría en Ciencias Agropecuarias, particularmente a la Dra. Guadalupe Prado por su entusiasmo mostrado en cada clase.

Dr. Luis Arturo García Hernández, Coordinador de la Maestría en Ciencias Agropecuarias.

M. en C. Alfonso Esquivel Herrera por su participación en el análisis estadístico y a la M. en C. Aurora Chimal Hernández por la identificación de las plantas.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el otorgamiento de una beca de estudios de Maestría y al programa de becas de la Universidad Autónoma Metropolitana.

Programa de Becas Santander, por la beca de movilidad otorgada.

"Si yo tuviera el don de profecía, conociendo las cosas secretas con toda clase de conocimientos, y si tuviera tanta fe como para trasladar los montes, pero me faltara amor, nada soy"

1-Corintios 13, 2

Dedicatoria:

Gracias a mi familia, Víctor, Cristina y Aris.

A mis amigos Mayra, Ramón, Bety, Pily , los que fueron apareciendo durante este recorrido, por estar ahí siempre con un oído y un consejo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Metales pesados	5
2.2 Manganeso	6
2.3 La minería en México y los jales	10
2.4 Descontaminación de jales	15
2.5 Rizósfera	20
2.6 La micorriza arbuscular	23
2.7 La micorriza arbuscular y los jales	28
2.8 La micorriza arbuscular y el manganeso	32
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	36
5. OBJETIVOS	37
5.1 Objetivo general	37
5.2 Objetivos particulares	37
6. HIPÓTESIS	38
7. MARCO DE REFERENCIA	39
7.1 Localización de la zona de estudio	39
7.2 Fisiografía	40
7.3 Geología	40
7.4 Clima	40
7.5 Hidrología	41
7.6 Suelos	41
7.7 Vegetación	41
7.8 Usos de suelo	42

8. METODOLOGÍA	44
8.1 Trabajo de gabinete	44
8.2 Trabajo de campo	44
8.3 Trabajo de laboratorio	46
8.3.1 Preparación de muestras de sustrato	46
8.3.1.1 Densidad aparente	46
8.3.1.2 Densidad real	46
8.3.1.3 Espacio poroso	48
8.3.1.4 Humedad por gravimetría	48
8.3.1.5 Textura	49
8.3.1.6 pH relación 1:2.5	51
8.3.1.7 Materia orgánica	52
8.3.1.8 Nitrógeno total	54
8.3.1.9 Ca^{2+} y Mg^{2+} intercambiables	54
8.3.1.10 Na^{+} y K^{+} intercambiables	56
8.3.1.11 Capacidad de intercambio catiónico	56
8.3.1.12 Fósforo asimilable	58
8.3.1.13 Determinación de nutrimentos asimilables	58
8.3.1.14 Óxidos metálicos	59
8.3.2 Preparación de muestras y tejidos vegetales para análisis biológicos	60
8.3.2.1 Identificación de plantas	60
8.3.2.2 Determinación del contenido de nutrimentos en tejidos vegetales	60
8.3.2.3 Tinción de raíces y estimación de los niveles de micorrización	61
8.3.2.4 Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízico arbusculares	62
8.4 Análisis de resultados	64
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
9.1 Características físicas de los sustratos	66
9.2 Características químicas de los sustratos	71
9.3 Óxidos totales en los sustratos	79
9.4 Acumulación de nutrimentos en tejidos vegetales	83
9.5 Micorriza arbuscular	91
9.6 Análisis de componentes principales	100
10. CONCLUSIONES	105
12. LITERATURA CITADA	107

Caracterización de suelos mineros y micorriza arbuscular en una zona de yacimientos y extracción de manganeso en Nonoalco en el estado de Hidalgo, México

RESUMEN

En la población de Nonoalco, Xochicoatlán, Hgo. se encuentra en operación una mina encaminada a la extracción de manganeso (Mn) a cielo abierto. Los desechos de la actividad minera son depositados a unos metros del lugar de extracción y se dispersan en el ambiente por acción del agua y del viento. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de la extracción minera de manganeso en la calidad de sustratos y micorriza arbuscular en parcelas con diferente uso de suelo: agrícola (sitio 1), vegetación nativa (sitio 2) y depósitos de desechos mineros (sitio 3). En cada sitio se seleccionaron tres parcelas y una especie vegetal establecida: *Zea mays*, *Ambrosia psilostachya* y *Polygonum hydropiperoides*. En muestras de los sustratos aledaños a las raíces de las plantas, se analizaron las características físicas y químicas y se cuantificaron las esporas de los hongos micorrízico arbusculares (HMA); se determinó, asimismo, la capacidad de acumulación de Mn en los tejidos vegetales y se estimaron los niveles de micorrización arbuscular en las raíces. Los resultados permiten apreciar una heterogeneidad en cuanto a las características físicas y químicas de los sustratos dependiendo del uso de suelo y como consecuencia de la influencia de las actividades mineras. En los sustratos, las concentraciones de Mn total disponible fueron altas en el sitio 1 (42.5 mg kg^{-1}) y muy altas en los sitios 2 y 3 (56 y 58 mg kg^{-1}); la materia orgánica alcanzó niveles de 3, 6.1 y 0.4 %, en tanto que el P disponible se registró en 2.4, 0.9 y 0 mg kg^{-1} en los sitios 1, 2 y 3, respectivamente. Ninguna de las tres especies vegetales acumuló Mn en niveles superiores a 40.1 mg kg^{-1} peso seco; entre el 63-76% del Mn se retuvo en las raíces y el resto fue transferido a tallos/hojas. Asimismo, en el sitio 1 el número de esporas de HMA fue de 669 en 250 g de suelo, mientras que en los sitios 2 y 3, los niveles alcanzaron 1016 y 45, respectivamente. *A. psilostachya* mostró una intensidad de colonización micorrízica en el sistema radical de 30.4% y *Z. mays* de 9.8%. En *P. hydropiperoides* no hubo colonización micorrízica y la acumulación de Mn en sus raíces (30.3 mg kg^{-1} peso seco) fue la más alta en relación a las otras dos especies vegetales.

Palabras clave: *Ambrosia psilostachya*, jales, manganeso, micorriza arbuscular, *Polygonum hydropiperoides*, *Zea mays*

Characterization of mining soils and arbuscular mycorrhiza in a mining deposit and manganese extraction site in Nonoalco, Hidalgo State, Mexico

ABSTRACT

In Nonoalco, Xochicoatlán, Hidalgo State, an open pit mine destined to the extraction of manganese (Mn) is under activity since 1964. The wastes derived from mining activity are deposited only a few meters from the place of extraction and dispersed in the surrounding environment for action of water and wind. The aim of this work was to determine the influence of mining extraction activities on the quality of substrates and arbuscular mycorrhiza in plots under different land uses: cropland (site 1), native vegetation (site 2) and mining wastes (site 3). In each site three plots and one established plant species were selected: *Zea mays*, *Ambrosia psilostachya* and *Polygonum hydropiperoides*, respectively. In samples of the rhizospheric soil, the physical and chemical characteristics were analyzed and the spores of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were quantified; in addition, the capacity of Mn accumulation in the plant tissues as well as the levels of arbuscular mycorrhizal colonization in roots were estimated. Results show an heterogeneity concerning the physical and chemical characteristics of substrates, linked to the land use and as consequence of the influence of the mining activities. Concentrations of total available Mn in substrates were high in the site 1 (42.5 mg kg^{-1}) and very high in the sites 2 and 3 (56 and 58 mg kg^{-1}); the organic matter reached levels of 3, 6.1 and 0.4 %, while the available P attained 2.4, 0.9 and 0 mg kg^{-1} in the sites 1, 2 and 3, respectively. None of the three plant species accumulated Mn in higher levels than 40.1 mg kg^{-1} dry weight; between 63–76 % of the Mn was retained in the roots and the rest was translocated to shoots. Likewise, in the site 1 the number of spores of AMF was of 669 in 250 g of soil, whereas in the sites 2 and 3, the levels reached 1016 and 45, respectively. *A. psilostachya* showed an intensity of micorrhizal colonization in the root system of 30.4 % and *Z. mays* of 9.8 %. In *P. hydropiperoides* micorrhizal colonization was not observed but Mn accumulation in roots (30.3 mg kg^{-1} dry weight) was the highest as compared to the other two plant species.

Key Words: *Ambrosia psilostachya*, arbuscular mycorrhiza, manganese, *Polygonum hydropiperoides*, tailings, *Zea mays*

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación del ambiente por metales pesados (MP) puede originarse de manera natural debido a la mineralización de las rocas o como consecuencia de las actividades humanas como la minería, misma que desde hace más de 500 años ha sido una industria con mucha actividad en México (Alloway, 1995; Coll-Hurtado *et al.*, 2002). Esta actividad conduce a la liberación de desechos depositados en sitios denominados jales, que al dispersarse por acción del viento y agua pueden contaminar suelos y mantos acuíferos con MP, situación que representa riesgos para la salud humana y en general para todos los seres vivos (Wagner, 1993; Sanità di Toppi y Gabbrielli, 1999).

En la actualidad existen millones de toneladas de desechos mineros acumulados en un sinnúmero de jales en el territorio nacional, de los que en su mayoría se desconocen sus características y sus riesgos potenciales al ambiente. En Real del Monte y Pachuca Hidalgo se estima que existen más de 100,000 toneladas de desechos como consecuencia de la explotación de Au y Ag (Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006).

Los desechos mineros tienen potencial de uso urbano o agrícola por lo que es necesaria su descontaminación a través de estrategias físicas (vitrificación y excavación) o químicas (lavado de contaminantes por inyección de agua). Desafortunadamente estas estrategias son caras, de corta duración y pueden producir daños en el ambiente, por lo que las técnicas biológicas como la

fitorremediación constituyen una alternativa más conveniente, económica y menos severa (Coll-Hurtado *et al.*, 2002; Cañizares-Villanueva, 2000).

La mayoría de los trabajos en fitorremediación están enfocados en el uso de las plantas tolerantes, sin tomar en cuenta la existencia de microorganismos que interactúan con ellas a nivel de raíz. Un ejemplo de estos grupos microbianos lo constituyen los hongos micorrízicos que están asociados al 95% de los vegetales. Existen siete grupos de micorizas pero la más común es la micorriza arbuscular (MA) que se encuentra en el 80% de las plantas superiores que se asocian con hongos pertenecientes al *Phylum Glomeromycota* (Bonfante y Perotto, 1995; Smith y Read, 1997).

La MA juega un papel relevante como bioprotector de las plantas al conferirles mayor resistencia ante diferentes tipos de estrés, incluyendo los MP. Es por eso que la MA contribuye al establecimiento de los vegetales y a su supervivencia en sitios contaminados, por lo que es fundamental en estrategias de fitorremediación (Leyval *et al.*, 1997).

La captación de los metales y los niveles de tolerancia en ambientes contaminados dependen tanto de la planta como de ciertos factores del suelo. En el caso del vegetal, se hace referencia a su variedad y si está micorrizado; los principales factores del ambiente edáfico que están influyendo son el contenido de materia orgánica, el pH y los niveles de MP (González-Chávez *et al.*, 2002).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Metales pesados

Los MP se han convertido en un tema actual en el campo ambiental así como en la salud pública; los daños que causan son severos y en ocasiones tan ausentes de síntomas, que las autoridades ambientales y de salud de todo el mundo destinan esfuerzos para minimizar la exposición de la población a estos elementos tóxicos (Volke *et al.*, 2005).

Los MP se agrupan dentro de una categoría que incluye 53 elementos con una densidad mayor a 6 g cm^{-3} . Su dispersión en el ambiente puede darse de manera natural debido al proceso de mineralización de las rocas, pero sobre todo como consecuencia de las actividades humanas como la minería (Alloway, 1995).

Algunos elementos como el Cu, Fe, Mn, Ni y Zn son esenciales para el desarrollo de los seres vivos debido a que son requeridos en numerosas funciones metabólicas; en contraste, el Cd, Pb, Hg y As no son fundamentales (Zenk, 1996). Los MP llegan al suelo provocando su contaminación y en muchas ocasiones son difíciles de remover (Fomina *et al.*, 2005).

Las altas concentraciones de MP pueden interferir con las actividades enzimáticas de las plantas al modificar las estructuras proteínicas, ocasionando daños y síntomas de deficiencias y efectos tóxicos, retrasos en el crecimiento, necrosis y alteraciones en el sistema fotosintético (Clements, 2001). Algunos ejemplos

precisos de los efectos de MP en vegetales se citan a continuación de acuerdo con Gardea-Torresdey *et al.* (2005):

- El Cd provoca deficiencias en la germinación de semillas, el contenido de lípidos y el crecimiento vegetal; induce la producción de fitoquelatinas.
- El Cr disminuye la actividad enzimática, produce daños en las membranas celulares, ocasiona clorosis y ennegrecimiento de las raíces.
- El Cu inhibe la fotosíntesis, los procesos reproductivos vegetales y produce una disminución del área tilacoidal.
- El Hg provoca deficiencias en la actividad fotosintética, la adquisición de agua y la producción de enzimas antioxidantes.
- El Ni reduce la producción de algunas proteínas, enzimas y clorofila, así como la germinación de las semillas.
- El Pb disminuye la producción de clorofila, el crecimiento vegetal e induce la síntesis de la enzima superóxido dismutasa.

2.2 Manganeso

El Mn descubierto en 1774 por el sueco Johann Gahn; su nombre proviene del latín, *mangnes* (magneto) o del italiano *mangnese*; es en la actualidad uno de los elementos más utilizados y se encuentra en el 0.85% de la corteza terrestre; es un componente común en las rocas, suelos y vegetales (Ginés, 2003). Es un metal de transición por lo que difícilmente se encuentra en estado puro y, generalmente está asociado a otros elementos como Fe, Al, Ca y Mg. Se encuentran en forma más

abundante como mineral de pirolusita (MnO_2), psilomelano $[(\text{BaH}_2\text{O})_2\text{Mn}_5\text{O}_{10}]$ o rodecrosita (MnCO_3) (Labanauskas, 1973).

El Mn es absorbido por las plantas bajo la forma de Mn^{+2} y como quelato, tanto por su sistema radical como por las hojas directamente. Por esta vía es aplicado frecuentemente en pulverizaciones para corregir deficiencias (Ginés, 2003).

La bioquímica del Mn más ampliamente conocida está involucrada con la liberación del oxígeno (O_2) en el fotosistema II y es indispensable para el funcionamiento de diversas proteínas y la actividad catalítica de ciertas enzimas. Por ejemplo, la Mn-superóxido dismutasa se encuentra en mitocondrias y cloroplastos y actúa sobre los radicales superóxido; la glutamato sintetasa participa en la síntesis de glutamina y la isocitrato deshidrogenasa interviene en el ciclo de Krebs (da Silva y Williams, 2001).

Debido a la gran complejidad de la química del Mn en los suelos y a los diversos procesos de absorción por las plantas, las propiedades de los suelos como de las plantas pueden explicar su disponibilidad. Por ejemplo, en suelos calcáreos los niveles de Mn pueden ser regulados; en otros casos se ha detectado que la temperatura del ambiente influye en el grado de toxicidad; a más de 67°C la tolerancia al Mn aumenta (Fassbender y Bornemisza, 1994).

También existen otras propiedades del suelo que influyen directamente en la disponibilidad del Mn, como el contenido de materia orgánica. A este respecto, en suelos volcánicos de Colombia se constató que el contenido de los componentes amorfos y de materia orgánica estuvieron correlacionados negativamente con el de Mn (Fassbender y Bornemisza, 1994).

Se ha detectado que el Mn tiene una relación antagónica con el Fe, debido a que las funciones metabólicas de ambos elementos en la planta están muy relacionadas; cuando las concentraciones de Mn son altas la absorción del Fe disminuye, por el contrario, cuando el Fe es alto el Mn tiende a disminuir (Kabata y Pendias, 2000).

Las necesidades cuantitativas en Mn por las plantas son relativamente pequeñas, pero varían más que en el caso de cualquier otro micronutriente. Los contenidos fluctúan según la especie vegetal; los tejidos verdes son los que contienen mayor concentración. En las hojas normales el Mn puede oscilar entre 30 y 500 mg kg⁻¹ de peso seco. Los tallos y raíces son más pobres (Ginés, 2003).

Aunque no se puede considerar como regla general, los primeros síntomas de la deficiencia en Mn suelen observarse en las hojas jóvenes. Aparecen bajo la forma de decoloraciones, que van de verde pálido a amarillo, o manchas cloróticas entre las nervaduras, en cuanto a tamaño y forma, no difieren de las normales (Ginés, 2003).

El nivel crítico de la deficiencia en Mn puede situarse entre 15 y 25 mg kg⁻¹ en materia seca, y son muchos los cultivos afectados: avena, trigo, centeno, chícharo, tomates, cítricos, etc. La avena es, entre los cereales, la más sensible a la deficiencia, la cual se conoce como "mancha gris" o "moteado gris". Los frutales de hueso, principalmente melocotonero y cerezo, son especies afectadas muy a menudo por la deficiencia en Mn (Ginés, 2003).

En referencia a la toxicidad, ésta se presenta en suelos con altos contenidos en Mn, también en aquellos sitios con niveles de pH inferiores a 5; igualmente, si las condiciones del suelo son muy reductoras, el efecto negativo se puede manifestar a un pH superior a 5 (Fassbender y Bornemisza, 1994). Normalmente los síntomas de toxicidad pueden variar de una planta a otra; por ejemplo, el frijol, la papa y la lechuga son plantas sensibles, mientras que el maíz, arroz, caña de azúcar y tomate, son tolerantes (CTAHR, 1998).

Algunos de los síntomas de toxicidad del Mn en los vegetales son los siguientes:

- Reducción en el crecimiento de los granos de las leguminosas.
- Inhibición del crecimiento de las raíces.
- Clorosis intervenosa en las hojas jóvenes así como necrosis.
- Deficiencia en la actividad fotosintética.
- Reducción en la población microbiana de *Rhizobium*, lo que impide la fijación de nitrógeno.

2.3 La minería en México y los jales

A través de su historia, México se ha caracterizado por ser una potencia minera y, en los años recientes, es uno de los países líderes en la producción de As, Cd, Pb y Mn (Mejía *et al.*, 1999; Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006).

Las actividades mineras han adquirido una gran relevancia económica en algunas regiones del país, como en la comunidad de Real del Monte en el estado de Hidalgo donde se instalaron La Sociedad Aviadora de Minas (1849-1906) y la United States Refining Mining Company (1906-1947) (Eslava, 1995).

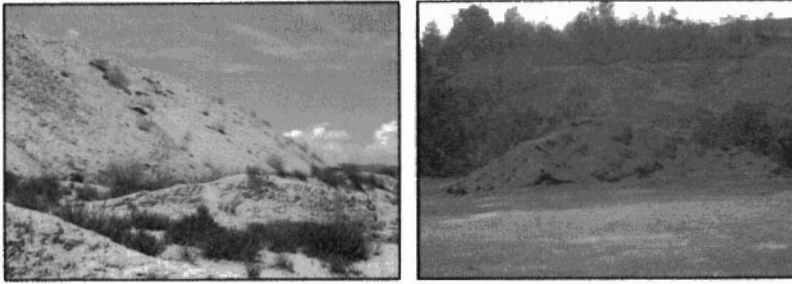
Otro ejemplo es la compañía minera Autlán S.A de C.V., fundada en 1953, encargada de la explotación de Mn en el poblado de San Francisco, en el municipio de Autlán en Jalisco y que ha estado en operaciones hasta la fecha. Esta empresa comenzó la exploración y explotación del depósito manganesífero en Molango en el estado de Hidalgo, considerado entre los más ricos y extensos del mundo; se trata de un yacimiento de origen sedimentario, consistente en carbonatos complejos de Mn, Ca y Mg (Castillo, 1999).

En 1964 inició la explotación de bióxido de manganeso natural en la mina de Nonoalco, en el estado de Hidalgo; esta mina continúa activa hasta el presente con la explotación del mismo mineral.

México es el segundo país en Latinoamérica y el quinto a nivel mundial en producir Mn; se estima que en territorio nacional existen 32 millones de toneladas de reservas de bióxido de manganeso. En 1981 se logró obtener un máximo de 208,200 toneladas del Mn (Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006).

Desafortunadamente, la actividad minera es una fuente de contaminación por MP (Razo *et al.*, 2004) y otros compuestos tóxicos debido, entre otras razones, a la acumulación a cielo abierto de desechos sólidos depositados en presas de jales (Fig. 1). Los desechos son el remanente de la trituración y molienda del mineral una vez que se han extraído los productos de interés. El origen del contenido metálico en los jales se relaciona con la geología del yacimiento; cada depósito de residuos tiene un comportamiento específico debido a la variabilidad espacial en las propiedades y las condiciones fisiográficas y de drenaje (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006).

Figura. 1



Jales derivados de la extracción minera. Jale campo de golf ubicado en Pachuca (izquierda); jale de Mn en el municipio de Nonoalco (derecha), ambos en el estado de Hidalgo.

Los sustratos de los jales son heterogéneos en su composición física y química, debido a que a través del tiempo las empresas mineras han utilizado diversos procesos y recursos para la explotación y extracción de minerales; por ejemplo, el uso de la pólvora era común en el siglo XIX, misma que fue sustituida por dinamita. A partir de 1875, en el interior de las minas fue mejorada la extracción del mineral con la llegada de las perforadoras neumáticas (Hernández *et al.*, 2006).

La extracción del Mn en Nonoalco se realiza a cielo abierto; se excava una superficie de más de 150 hectáreas con 500 m de profundidad. Este método pone en peligro tanto la salud humana como la estabilidad del ambiente, debido a la utilización de maquinaria pesada y de agentes químicos como el cianuro (SAPRIN, 2005).

En la actualidad existen millones de toneladas de desechos depositados en numerosos jales en el territorio nacional, de los que no se conocen sus condiciones y sus efectos potenciales en el ambiente (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006). En Real del Monte y Pachuca se estima que existen más de 100,000 toneladas de desechos acumulados como consecuencia de la explotación de Au y Ag (Fig.1) (Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006). El problema que representan estos depósitos ha sido preocupante desde 1960 (Herrera y González, 1996), ya que la cantidad remanente de MP en esos sustratos puede ser significativamente peligrosa (Eslava, 1995).

El artículo 36 del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en materia de residuos peligrosos, así como la NOM-141 sobre Presas de Jales, hacen referencia a que las presas de jales podrán ser ubicadas en su lugar de generación, pero no a menos de 25 km de las poblaciones humanas más cercanas, situación que nos se lleva a cabo. Por ejemplo, en Nonoalco, los desechos son depositados a unos metros de la mina y en medio del poblado.

Debido a que en los depósitos de jales los materiales no están consolidados, los elementos tóxicos contenidos se dispersan frecuentemente por acción del viento y del agua, situación que puede conducir a la contaminación de la atmósfera, el suelo y los mantos acuíferos, poniendo en riesgo la salud de los organismos.

La bioacumulación de MP en los tejidos vegetales y animales puede causar estragos en la cadena alimenticia y representar un riesgo para la salud humana (Wagner, 1993; Sanità di Toppi y Gabbrielli, 1999). Por ejemplo, los vegetales utilizados en la alimentación contribuyen con el 70% del ingreso de Cd en los humanos, elemento que puede dañar una serie de tejidos y órganos (Lee *et al.*, 1976; Wagner, 1993).

Algunos estudios en México relacionados con los jales y su impacto en agua y alimentos demostraron que de un total de 175 niños, en el 10% de ellos el contenido de Pb llegó a superar los $15 \mu\text{g L}^{-1}$ en la sangre; de igual manera, de un total de 112 niños, el 70% presentó niveles superiores a los $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de creatinina de As en orina (Mejía *et al.*, 1999). Otros trabajos han puesto en evidencia daños en células sanguíneas y apoptosis asociados con la exposición a As, lo que demuestra que los elementos o compuestos están disponibles (Monroy *et al.*, 2002).

En otro estudio realizado por Rodríguez-Agudelo *et al.* (2006) en el distrito minero de Molango, fue evaluada la exposición al Mn en 288 personas. Los resultados indicaron niveles de 6-280 mg de Mn kg^{-1} en suelos, $0.42 \mu\text{g Mn m}^3$ en aire y $10.16 \mu\text{g/L}$ en sangre; fue puesta en evidencia cierta relación del Mn con el mal de Parkinson, alteraciones psiquiátricas y motoras en aquellas personas que se encontraban más cerca de los sitios de extracción del Mn.

2.4 Descontaminación de jales

Actualmente las áreas ocupadas por los jales son utilizadas para el desarrollo urbano y agrícola por lo que es necesaria la aplicación de técnicas de descontaminación como las que se mencionan a continuación:

- **Vitrificación:** el suelo es sometido a altas temperaturas (1600-2300°C) con la finalidad de fundir los metales presentes. Esta técnica sólo es considerada ante situaciones extremas (edafologia.ugr.es).
- **Excavación:** con el objetivo de desarrollar barreras se emplean impermeabilizantes y se coloca de nuevo el suelo contaminado. Esta técnica no es muy recomendable ya que en muchas ocasiones se forman grietas que permiten la fuga de los elementos tóxicos (edafologia.ugr.es).

Químicas

- **Lavado:** consiste en inyectar agua en el suelo lo que inmoviliza los contaminantes para después ser extraídos mediante bombas de succión. Esta técnica es viable en descontaminación de MP (edafologia.ugr.es).
- **Riego con agua:** evita la dispersión de los polvos y controla los gases tóxicos que emiten los hornos eléctricos, acción que se lleva a cabo en compañías mineras del norte de la República Mexicana (Coll-Hurtado *et al.*, 2002).

Desafortunadamente estas técnicas de remediación son caras y poco convenientes, ya que resuelven el problema únicamente en forma temporal y en algunas ocasiones su aplicación puede dañar el ambiente (Khan *et al.*, 1998).

Hernández *et al.* (2006) mencionan que, de acuerdo con sus propiedades físicas y químicas, los desechos de los jales de Real del Monte y Pachuca pueden ser aprovechados de distintas maneras, por ejemplo para la fabricación de materiales de construcción como cemento y teja, asimismo, podrían extraerse algunos elementos metálicos como Au y Ag.

Existen otras alternativas de remediación como las técnicas biológicas que son convenientes, económicas, de larga duración y no dañan el ambiente. Un ejemplo de ello lo constituyen los métodos basados en el empleo de microorganismos quienes mediante mecanismos de absorción son utilizados en la remediación de sitios contaminados por la industria fundidora y minera. Esta técnica consiste en la captación de metales en la biomasa viva o muerta (Cañizares-Villanueva, 2000).

El desarrollo de los sistemas microbianos para la recuperación de metales depende de factores que incluyen la capacidad, eficiencia y selectividad del bioabsorbente, su facilidad de recuperación, su equivalencia con los tratamientos físicos y químicos en uso, así como su economía y tolerancia (Cañizares-Villanueva, 2000).

A este respecto, otro ejemplo de bioprocesos de descontaminación es la fitorremediación *in situ* de áreas contaminadas. En los ambientes contaminados por MP las plantas presentes desarrollan mecanismos de tolerancia (Khan *et al.*, 1998). Por consiguiente, la fitorremediación involucra las siguientes estrategias:

- **Fitoestabilización:** previene la dispersión de los MP por medio de su inmovilización en el suelo. Consiste en el uso de plantas tolerantes a los metales con un sistema extenso de raíces y elevada cobertura de suelo que previene la erosión eólica o hídrica (Göre y Paszkowski, 2006).
- **Fitoextracción:** es una técnica más reciente y más efectiva ya que limpia los suelos contaminados. Consiste en el uso de plantas acumuladoras de MP en las raíces o en los tallos y hojas (Göre y Paszkowski, 2006).
- **Fitodegradación:** se emplean plantas y algunos microorganismos para degradar algunos compuestos como hidrocarburos y plaguicidas (Jeffries *et al.*, 2003).
- **Fitovolatilización:** es la utilización de plantas con la finalidad de volatilizar contaminantes.

Se ha descrito un grupo de plantas llamadas metalofitas, que son capaces de crecer en áreas contaminadas y han desarrollado mecanismos que les confieren una mayor resistencia a altas concentraciones de MP. Algunas de las metalofitas son conocidas como hiperacumuladoras (Carrillo y González-Chávez, 2006) debido a que tienen la capacidad de tolerar de 10 a 100 veces más los valores normales de un determinado MP. Ejemplo de estas plantas son las pertenecientes al género *Thlaspi* (Tabla 1, Figura 2). En la actualidad se conocen más de 400 especies hipercumuladoras, la mayoría asociadas con suelos ricos en MP; 172 de ellas han sido descritas en América Latina. Sin embargo, aún existen pocos estudios acerca de estas especies en México (Flores-Tavizón *et al.*, 2003).

Tabla1. Niveles de algunos elementos acumulados en tejidos de *Thlaspi* sp.

Especie	Zn	Cd	Pb
	mg kg ⁻¹		
Niveles establecidos	10,000	100	1,000
<i>T. rotundifolium</i>			1,943-8,200
<i>T. caerulescens</i>	21,000	164	660

Fuente: Vogel-Mikus *et al.* (2005)

Figura. 2



Thlaspi praecox, planta hiperacumuladora de Zn, Cd y Pb.

Otro ejemplo de planta hiperacumuladora es *Phyllanthus favieri*, capaz de acumular niveles de 10,003 a 42,213 mg kg⁻¹ de Ni en tejidos aéreos; los niveles mínimos de acumulación son 1,000 mg kg⁻¹ (Perrier *et al.*, 2006).

El uso de plantas tolerantes y acumuladoras provee una tecnología poco costosa de remediación en armonía con la naturaleza, que también mantiene las propiedades biológicas y la estructura física, química y microbiana del suelo. Asimismo, la vegetación de los jales disminuiría la erosión eólica e hídrica (Göre y Paszkowski, 2006).

2.5 RIZOSFERA

Este término fue definido por Hiltner en 1904, para referirse a la zona del suelo donde se liberan los exudados de la raíz de las plantas, los cuales pueden estimular, inhibir o no ejercer ningún efecto sobre los microorganismos. La rizosfera puede llegar a tener 1 ó 2 mm de espesor y se divide en las siguientes capas: a) ectorrizosfera, suelo que rodea las raíces; b) endorrizosfera, cobertura de raíz colonizada o colonizable por microorganismos; y c) rizoplaneo, capa intermedia que divide la endorrizosfera y ectorrizosfera (Pinton *et al.*, 2001).

El volumen de la rizosfera depende de la tasa de exudación, del impacto de utilización de rizodepósitos, de la distribución espacial y temporal de los exudados, así como de las concentraciones de CO₂, que ayudan a la solubilización de nutrientes vegetales. Estos componentes orgánicos son clasificados de acuerdo con diversos factores como (Pinton *et al.*, 2001):

- Las propiedades químicas como la estabilidad (hidrólisis y oxidación), volatilidad, peso molecular y solubilidad en agua.
- La modalidad de su liberación (exudados y secretados).
- La forma en cómo los microorganismos los utilizan.
- Su función (fitohormonas, ectoenzimas y fitoalexinas).

En general, es mejor hacer una clasificación de acuerdo con la utilización de los exudados por los microorganismos debido a que la comunidad microbiana puede tener una influencia favorable o dañina sobre el desarrollo de la planta; la microbiota está muy relacionada con el sistema radical, cubre parcialmente su superficie: las sustancias secretadas pueden ser tóxicas o benéficas y a su vez inducir una respuesta inmediata y profunda (Alexander, 1980).

La población bacteriana de la rizosfera se diferencia del resto del suelo debido a que contiene mayores proporciones de formas Gram-negativas no formadoras de esporas, como *Agrobacterium radiobacter* (familia Rhizobiaceae), *Pseudomonas* sp, micobacterias y corinebacterias. También se encuentran especies amonificadoras, nitrificadoras, desnitrificadoras y degradadoras aerobias de la celulosa. Es por eso que las exigencias en nutrimentos que presenta la rizosfera son diferentes de las de la población microbiana normal del suelo (Wild y Rusell, 2000).

De una manera global, los microorganismos que se desarrollan en la rizosfera pueden agruparse en tres categorías (Brimecombe *et al.*, 2001). En la primera se encuentran los que se asocian con las plantas e incrementan el suministro de nutrimentos minerales. La segunda categoría involucra aquellos que estimulan el crecimiento de la planta indirectamente mediante la inhibición de agentes patógenos. Por último, en el tercer grupo de microorganismos benéficos se

incluyen los que estimulan el crecimiento vegetal de manera directa mediante la producción de fitohormonas.

Otra forma de clasificar a los organismos benéficos que ayudan al desarrollo de las plantas es la siguiente:

- Saprobios: Incluye las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR's).
- Simbiontes mutualistas: Como las bacterias fijadoras de N_2 y los hongos micorrízicos (Pinton *et al.*, 2001).

En la rizosfera la presencia de MP puede llegar a afectar de manera directa o indirecta; por ejemplo se ha reportado la reducción poblacional de la bacteria *Rhizobium japonicum* (Brimecombe *et al.*, 2001). En otros estudios se ha observado que al incrementar las concentraciones de Cd, Pb y Mn las poblaciones de bacterias, hongos, actinomicetos y nemátodos tienden a disminuir (Ross y Kaye, 1994; da Silva y Williams, 2001).

2.6 LA MICORRIZA ARBUSCULAR

Los problemas ambientales causados por la minería en México son una herencia del pasado; en algunos distritos de Pachuca esto se ha dado a lo largo de más de 500 años, donde los jales han sido colonizados por diferentes especies vegetales. Las raíces quedan expuestas directamente a los MP, al igual que los microorganismos que se desarrollan en la rizosfera, incluyendo aquellos que son benéficos para el crecimiento vegetal, como los hongos micorrízico arbusculares (HMA) (Jeffries *et al.*, 2003).

A este respecto, la micorriza es el órgano formado por la asociación entre una planta y hongos del suelo; esta simbiosis la integra el 95% de las plantas terrestres (Bonfante y Perotto, 1995; Smith y Read, 1997).

Existen distintos grupos de micorriza, pero la micorriza arbuscular (MA) es el tipo más común debido a que se presenta en el 80% de las especies vegetales incluyendo las de interés agronómico (Bonfante y Perotto, 1995; Smith y Read, 1997), así como en un amplio intervalo ecológico (Trappe, 1987) que abarca incluso suelos contaminados por MP (del Val *et al.* 1999; Turnau *et al.*, 2001).

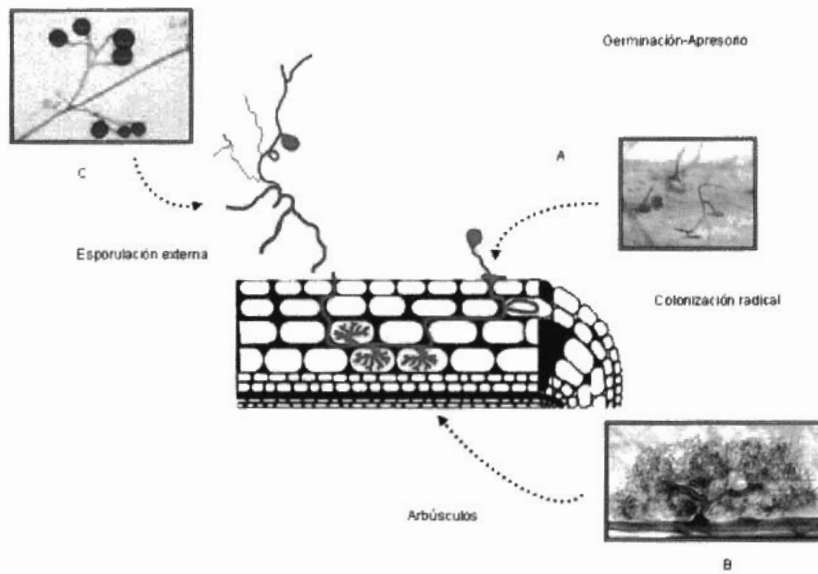
Los HMA existen desde el periodo Ordovícico y han contribuido con la adaptación de las plantas en la tierra (Pawlowska y Taylor, 2004). Por tanto, se ha reconocido

que, los HMA son determinantes cruciales de la diversidad vegetal, la variabilidad de los ecosistemas y la productividad de las comunidades vegetales (van der Heijden *et al.*, 1998).

El desarrollo de la MA está dado en dos fases; la primera ocurre dentro de la raíz y la otra fuera de ella (Fig. 3). En la primera fase se forman hifas intracelulares con numerosas ramificaciones, se integran arbuscúlos y vesículas; en la segunda etapa se forman hifas fuera de la raíz, lo que origina nuevas esporas que se extienden y liberan en el suelo y colonizan otras raíces. La MA es capaz de colonizar entre el 60 y el 90% del sistema radical (Mukerji *et al.*, 2000).

El micelio extrarradical en el suelo tienen dos funciones: ayudar al desarrollo de las esporas y contribuir con la adquisición de nutrimentos que son transportados hasta la planta. Los arbuscúlos desempeñan un papel clave en la micorrización, ya que a este nivel ocurre el intercambio de nutrimentos entre las células fúngicas y vegetales; las estructuras llamadas vesículas sirven como órganos de almacén de compuestos enetgéticos (Brady y Weil, 1999; Rillig y Mummey, 2006).

Figura 3



Desarrollo de la simbiosis micorrizica arbuscular. A) Germinación de la espora y formación de los apresorios, B) Colonización de la raíz y formación de arbúsculos, C) Proliferación del hongo (esporas y micelios extrarradicales) en el suelo.

De acuerdo con su morfología, es decir con respecto a sus estructuras intrarradicales, la MA puede estar dividida en dos grupos (Dickson *et al.*, 2007):

- *Arum maculatum* (tipo *Arum*): El hongo ingresa en la epidermis e hipodermis, desarrolla hifas a lo largo de los espacios intercelulares corticales, para después entrar en las células corticales y formar arbuscúlos.
- *Paris quadrifolia* (tipo *Paris*): El hongo presenta en el córtex estructuras que son totalmente intracelulares, con hifas irregulares en forma de espiral, sin formación de arbuscúlos, no se aprecia una estructura terminal; a sus estructuras se les conoce como arbuscúlos espirales.

Ambas morfologías, *Arum* y *Paris*, están en función de la especie vegetal y fúngica involucradas; también pueden influir otros factores como la presencia de MP; en sitios contaminados es más común observar MA tipo *Paris* que tipo *Arum* (Vogel-Mikus *et al.*, 2005; Dickson *et al.*, 2007).

Los HMA también participan en los distintos procesos de la agregación del suelo de diversas maneras (Rillig y Mummey, 2006):

- Biofísica: Mediante mecanismos similares a los de las raíces, a menor escala, utilizando las hifas para atrapar las partículas primarias del suelo (materiales orgánicos y pequeños agregados).
- Bioquímica: Por medio de la producción de proteínas hidrófobas, las cuales son capaces de actuar como "pegamentos" de partículas del suelo.

- **Biológica:** Sirviendo las hifas de alimento, como sustratos para el crecimiento de los microorganismos del suelo.

Existen factores que afectan de manera positiva o negativa de la MA. La ausencia de una planta hospedera provoca que el desarrollo de las hifas sea inhibido; en presencia de exudados de raíz, el crecimiento de las hifas se da de manera exitosa (Hause y Fester, 2005). Algunos microorganismos afectan la etapa presimbiótica de manera positiva mediante la producción de moléculas como aminoácidos, hormonas vegetales, vitaminas, compuestos orgánicos y CO₂ (Jeffries *et al.*, 2003).

La función de la MA en la sustentabilidad de los agroecosistemas y, por supuesto en los sistemas naturales, se deriva de su papel como biofertilizador al incrementar la captación de nutrientes del suelo favoreciendo la producción de biomasa en las plantas. Se ha observado que las hifas tienen diámetros de 3-4 µm, situación que favorece su ingreso en los poros del suelo, lo que hace posible el contacto directo con los nutrientes que en muchas ocasiones están fuera del alcance de las raíces (Clark y Zeto, 2002).

Efecto de la captación de nutrientes por la M.A puede ser diverso; por ejemplo, Schroeder y Janos (2005) observaron en las plantas de interés agronómico *Capsicum annuum*, *Zea mays* y *Cucurbita pepo* un mejoramiento en la producción de biomasa.

La MA también desempeña un papel bioprotector al reducir el daño ocasionado por organismos patógenos como *Phytophthora*, *Aphanomyces*, *Erwinia*, mediante la activación mecanismos de defensa como la síntesis de proteínas específicas (Mukerji *et al.*, 2000). La MA confiere, asimismo, protección contra factores abióticos, como los MP (Leyval *et al.*, 1997; Rivera-Becerril *et al.*, 2002, 2005). La presencia de MP en los suelos tiende a retardar, reducir e incluso eliminar completamente la colonización de las raíces por los HMA (Gildon y Tinker, 1981; Leyval *et al.*, 1997); algunos aislados fúngicos exhiben cierta tolerancia y pueden jugar un papel clave en la movilización e inmovilización de cationes, cambiando su disponibilidad hacia las plantas (Pishchik *et al.*, 2002).

2.7 LA MICORRIZA ARBUSCULAR Y LOS JALES

Los sustratos de los jales son pobres en nutrientes y poco estables debido a sus características físicas y químicas; en algunas ocasiones presentan un pH muy ácido, situación no idónea para el desarrollo de la vegetación (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006). Pese a ello, numerosos jales se encuentran colonizados por plantas.

Los HMA contribuyen con el establecimiento de los vegetales y su sobrevivencia en sitios contaminados, siendo por tanto, fundamentales en estrategias de fitorremediación. La captación de los metales por los tejidos vegetales y la tolerancia dependen tanto de la planta como de otros factores del sustrato, por lo que se requiere información concerniente a estas interacciones.

El papel de los HMA en tales interacciones tiene gran relevancia, ya que estos hongos ayudan a incrementar la biomasa vegetal aun en sustratos con niveles altos de MP (Leyval *et al.*, 1997). Ciertos ecotipos fúngicos provenientes de sitios contaminados son más tolerantes que los procedentes de sitios no contaminados, sugiriendo que existe una adaptación al estrés impuesto por los MP. A este respecto los HMA que no provienen de sitios contaminados pueden ser afectados por el Zn, Pb y Cd (Góre y Paszkowski, 2006).

El efecto protector de la MA contra los elementos potencialmente tóxicos puede variar dependiendo de las condiciones de crecimiento de la planta, así como del aislado y especie fúngica, del metal presente y de sus concentraciones (Leyval *et al.*, 1997). Por ejemplo, en un estudio realizado por Kelly *et al.* (2005) se demostró que el HMA *G. clarum* alcanzó niveles de tolerancia entre 22.4 y 92.7% frente al Al, mientras que *Scutellospora heterogama* y *Acaulospora morrowiae* fueron más sensibles con 3.9-40.0% y 1.6-12.1%, respectivamente. Por su parte, González-Chávez *et al.* (2002) observaron una variabilidad en los niveles de acumulación de

Cu en esporas de *G. mosseae*, *G. caledonium* y *G. claroideum* procedentes del mismo sitio contaminado.

Otro ejemplo que ilustra cómo la formación de la MA puede ser afectada fue demostrado por Vogel-Mikus *et al.* (2005) quienes, en sitios cercanos a desechos mineros de Pb con altas concentraciones de Zn ($4,100 \text{ mg kg}^{-1}$), Cd (85 mg kg^{-1}) y Pb ($33,000 \text{ mg kg}^{-1}$), observaron que la formación de arbúsculos fue inhibida e incluso en algunas plantas no hubo colonización micorrízica. Esto sustenta las observaciones hechas por otros autores, como Gildon y Tinker (1983), quienes dicen que ante altos niveles de metales el desarrollo de la MA es inhibido.

Aunque existen pocos estudios enfocados en la presencia de HMA asociados a plantas metalotolerantes en jales, los HMA son capaces de establecerse con éxito. Un ejemplo de ello es el trabajo realizado por Alves da Silva *et al.* (2005) quienes observaron que los micosimbiontes, además de disminuir los efectos tóxicos en las plantas de *Paspalum notatum* en invernadero y *Jatropha molissima* y *Cleome spinosa* en condiciones naturales, favorecieron una mayor diversidad vegetal en sitios con actividades mineras, de las cuales se extraía Pb, Cu, Mn, Zn y Fe.

En otro trabajo, Vogel-Mikus *et al.* (2005) reportaron que la planta hiperacumuladora *T. praecox*, establecida en sitios cercanos a una mina en

Eslovenia es capaz de formar MA. De igual modo, se observó que dependiendo de los niveles de contaminación la morfología de la MA fue distinta; por ejemplo, en lugares contaminados prevaleció la micorriza tipo *Paris*, mientras que en sitios no contaminados predominó el tipo *Arum*.

En la actualidad poca información se ha generado en México acerca de los jales y su relación con la MA. El efecto benéfico de la MA en plantas creciendo en jales fue observado en Zimapán, Hidalgo (González-Chávez *et al.*, 2002), donde se lograron establecer exitosamente ejemplares de *Sorghum vulgare* inoculados con *G. intrarradices* en sitios contaminados con As ($500 \mu\text{g kg}^{-1}$), Cd ($500 \mu\text{g kg}^{-1}$) y Pb ($2700 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Otro reporte procedente de desechos de Temascaltepec en el Estado de México, permitió determinar que la vegetación tiende a desarrollarse en pequeñas "islas", cuyo contenido en materia orgánica, nutrimentos y esporas de HMA fue más elevado que en suelo desnudo, donde fue favorecido el establecimiento de plantas de las familias Fabaceae, Asteraceae y Poaceae (González-Chávez *et al.*, 2008).

Juárez-Vázquez *et al.* (2006) en un trabajo llevado a cabo en tres jales (CEUNI, Campo de Golf y Mina de Acosta) ubicados en Pachuca, identificaron algunas especies vegetales asociadas a los HMA. *Sonchus oleraceus* mostró niveles del

25-52% de colonización micorrízica en el sistema radical. Asimismo, se aislaron de los sustratos esporas de los géneros *Glomus* y *Gigaspora*.

2.8 La micorriza arbuscular y el manganeso

Investigaciones enfocadas específicamente en la MA y la presencia de Mn, incluyen el estudio realizado por Liu *et al.* (2000) quienes bajo condiciones de invernadero, sometieron plantas micorrizadas y no micorrizadas de *Zea mays* a diferentes concentraciones del elemento. En presencia de altos niveles de Mn (240 mg kg^{-1}) en los sustratos, las plantas micorrizadas acumularon bajas concentraciones del metal en las partes aéreas, a diferencia de las no micorrizadas donde ocurrió lo contrario. Asimismo, cuando los sustratos contenían bajos niveles de Mn, tanto las plantas micorrizadas como las no micorrizadas, acumularon niveles similares.

Malcova *et al.* (2003) realizaron experimentos con plantas de *Z. mays* inoculadas con aislados de *Glomus*., sometidas a diferentes niveles de Mn (0.1, 0.5 y 1 mM) durante dos años. La colonización de *Glomus* en las raíces disminuyó a medida que las cantidades de Mn aumentaron; sin embargo el incremento de la biomasa vegetal aumentó, lo que sugirió que las plantas tienen una alta resistencia al Mn a diferencia de los HMA. De igual modo, la disponibilidad de Mn en suelos aumentó con el decremento del pH y el potencial de reducción. A este respecto, la toxicidad del Mn se incrementa en suelos ácidos con grandes cantidades de Mn reducible

en combinación con un alto contenido de materia orgánica, una alta actividad microbiana y condiciones de anaerobiosis (Malcova *et al.*, 2003).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los conocimientos que se tienen respecto a la influencia de las actividades mineras en el ambiente son limitados, particularmente en lo que concierne al riesgo que para los seres vivos representan los desechos mineros debido al contenido de elementos o compuestos tóxicos. La mayoría de los trabajos llevados a cabo en jales se han orientado en determinar los aspectos físicos y químicos de los sustratos, por lo que se requiere de un análisis dirigido a la parte biológica que permita conocer cuáles son las especies vegetales capaces de desarrollarse en los desechos, así como determinar la presencia de microorganismos benéficos que interaccionan con ellas a nivel de raíz.

A este respecto, en el centro de México se encuentra uno de los yacimientos manganésíferos más importantes del mundo donde destaca el distrito minero de Molango en el norte del estado de Hidalgo. Desde 1964, la compañía Autlán se ha dedicado a la explotación de Mn a cielo abierto en el poblado de Nonoalco, por lo que se ve influenciado por las actividades de la mina, incluyendo los desechos que son depositados en el mismo lugar. La liberación de partículas a la atmósfera conteniendo residuos de Mn incrementa la exposición prolongada a este elemento; ello puede ser precursor de daños a la salud de la población como alteraciones en el sistema nervioso y falta de coordinación en el sistema motor, según el reporte de Rodríguez-Agudelo *et al.* (2006).

En el poblado de Nonoalco los habitantes destinan sus terrenos a diferentes usos de suelo (agrícola, ganadero) que, dependiendo también de su cercanía con la mina, son sujetos a una influencia por las actividades mineras. En este sentido, se desconocen los niveles de acumulación de Mn en los sustratos y en las plantas presentes en el sitio. Los únicos datos hasta la fecha actual reportan que el maíz cultivado en el lugar y una especie de pasto creciendo en forma permanente, acumulan 304 y 135 mg Mn kg⁻¹ de tejido en peso seco, respectivamente (Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006). Asimismo, los tallos y/o hojas del duraznero, limonero y pasto estrella de África en huertos familiares captan Mn en niveles tóxicos de 152.7, 431.2 y 440.7 mg kg⁻¹, respectivamente (Ortega, 2005).

Por lo anterior, el presente trabajo permitirá generar información respecto, a) al contenido de Mn en sustratos con diferente uso de suelo, b) la capacidad de acumulación de Mn por algunas especies vegetales establecidas, y c) la interacción de las plantas con hongos benéficos del suelo. Los resultados incrementarán el conocimiento sobre la interacción sustrato/planta/microorganismo en un ambiente influenciado por la extracción de Mn.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo con lo expuesto hasta ahora, las preguntas de investigación en las que se enfoca este trabajo son:

- ¿Cuáles son las características físicas y químicas de los sustratos de Nonoalco?
- ¿Qué niveles de concentración de Mn contienen?
- ¿Qué plantas se encuentran presentes en los sustratos de Nonoalco?
¿Cuál es su capacidad de acumulación de Mn?
- ¿Cuáles son los niveles de colonización micorrízica en las raíces de los vegetales? ¿El número de esporas de hongos micorrízico arbusculares en los sustratos varía en función del uso de suelo?

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Determinar la influencia de la extracción minera de manganeso en la calidad de sustratos y micorriza arbuscular en parcelas con diferente uso de suelo en Nonoalco estado de Hidalgo.

5.2 Objetivos Particulares

- Caracterizar física y químicamente los sustratos sujetos a diferente uso de suelo.
- Identificar taxonómicamente las plantas predominantes en los sitios con uso agrícola, forestal y jales.
- Determinar la capacidad de acumulación del Mn por algunas especies vegetales.
- Cuantificar los niveles de micorrización arbuscular en las raíces de las plantas seleccionadas.
- Cuantificar las esporas de los hongos micorrízicos en los sustratos.

6. HIPOTESIS

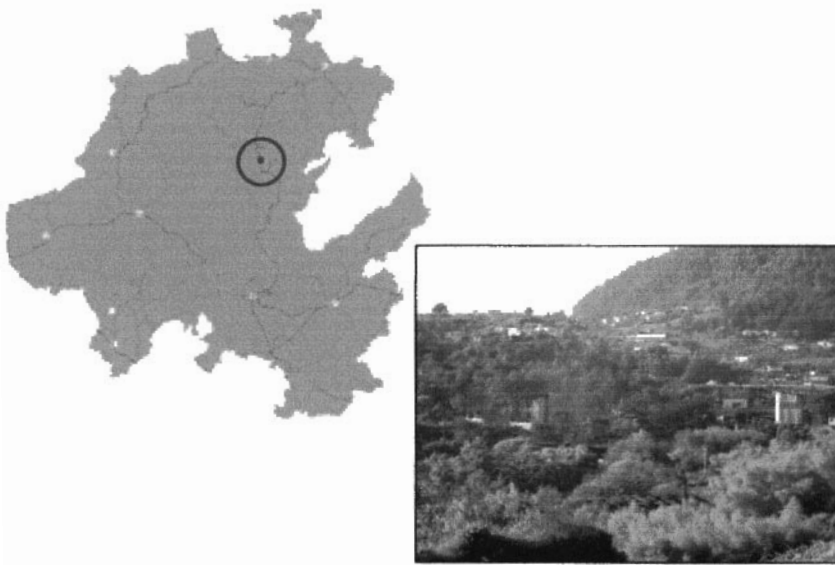
- Las características físicas y químicas de los sustratos, incluyendo la concentración de Mn, son distintas de un sitio a otro en función del uso de suelo al que están sujetos.
- Debido al origen y procesamiento de los desechos mineros, las concentraciones de Mn superan los límites establecidos que, según Labanauskas (1973) y Castellanos *et al.* (2000), son de 80-5000 mg kg⁻¹.
- La ausencia o presencia de colonización micorrízica y propágulos de hongos micorrízico arbusculares (esporas), está determinada por los niveles de Mn en los suelos y sustratos.
- Las plantas acumulan cantidades más elevadas de Mn en tejidos aéreos que en raíces.

7. MARCO DE REFERENCIA

7.1. Localización de la zona de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada en el distrito minero de Nonoalco, en el municipio de Xochicoatlán, al norte del estado de Hidalgo, a los $20^{\circ} 58' 0''$ de latitud norte y a los $98^{\circ} 45' 0''$ de longitud oeste y a 111 km de la Ciudad de Pachuca de Soto. Se trata de una microcuenca con una población de 810 habitantes (Fig. 4).

Figura 4



Ubicación y vista general del poblado de Nonoalco en el estado de Hidalgo.

7.2. Fisiografía

Desde el punto de vista fisiográfico, los municipios manganésíferos de Hidalgo forman parte de la Sierra Madre Oriental de la que se desprende la Sierra de Zacualtipán, que marca el borde suroccidental de la zona de producción de manganeso. El relieve tiene una dirección preferencial de noreste-sureste, a consecuencia de la disposición de la Sierra Madre Oriental.

7.3. Geología

Existe un predominio de formaciones sedimentarias marinas del Jurásico superior en toda la zona. También se presentan rocas ígneas extrusivas más recientes, del Cenozoico, en particular en la porción sur de la zona de estudio y en un área próxima a Tlanchinol. Los cuerpos mineralizados del Mn se presentan a partir de óxidos, derivados directamente de carbonatos, los cuales han sido clasificados como depósitos epigenéticos, estructuras resultantes de transformaciones secundarias de los sedimentos manganésíferos producidas por oxidación y lixiviación de los afloramientos, gracias a las características climáticas (Sánchez y Sánchez, 1992).

7.4. Clima

Cuenta con un clima templado húmedo con un régimen pluvial de los más lluviosos del país. La zona manganésífera del norte de Hidalgo está expuesta al avance de las masas húmedas procedentes del Golfo de México, en su ascenso por la Sierra Madre Oriental, con lo que se provocan nublados y lluvias todo el

año; tiene una precipitación anual de 1,890 mm y una temperatura media anual de 17° C (INEGI, 2004).

7.5. Hidrología

La zona de estudio es parte de la región hidrológica Pánuco en su porción cuenca del río Moctezuma. El paso de la carretera Pachuca Huejutla por el sitio de explotación de Mn, fue trazado a lo largo del parteaguas local, de tal modo que el flanco oriental de la vía corresponde a la subcuenca del río Los Hules, donde queda comprendida la localidad de Nonoalco. Muchos de los cuerpos de agua que se distribuyen en la cuenca son alimentados por las aguas de la laguna de Meztlán (Sánchez y Sánchez, 1992).

7.6. Suelos

El suelo es de origen mesozoico jurásico sedimentario, rico en materia orgánica y nutrientes. Los diferentes tipos de suelo de origen residual presentes en esta zona tienen alto contenido de carbonatos, derivados de calizas por la acción de la precipitación y la temperatura. El tipo de suelo es Phaozem háplico, desarrollado a partir de rocas sedimentarias e ígneas (INEGI, 2010; Enciclopedia de los Municipios de México, 2005).

7.7. Vegetación

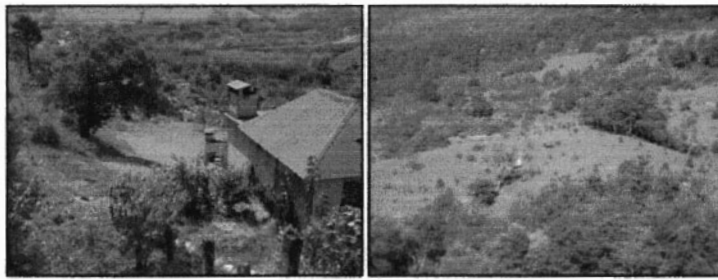
En función de la abundancia en la zona, la vegetación es exuberante y el suelo de vocación forestal. Existen en las inmediaciones de la zona de explotación manganesífera, en particular hacia el norte y el oriente, algunos bosques

latifoliados que evidencian la presencia de vegetación alta, de selva perennifolia, en esta porción de Hidalgo. También se cuenta con bosque mesófilo de montaña debido a lo elevado del terreno (Sánchez y Sánchez, 1992; CONABIO, 2010).

7.8. Usos de suelo

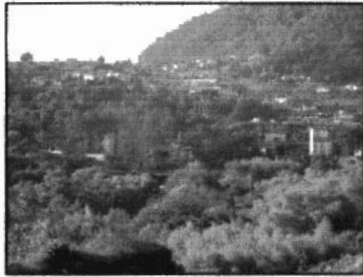
En la parte baja de la microcuenca está situada la mina de la compañía Autlán, que opera en esa zona desde 1964. En torno a la mina está asentada la población de Nonoalco; en la que se perciben sitios o parcelas con diferente uso de suelo: 1) agrícola con cultivos de frijol y maíz, entre otros; 2) ganadero con pastizales para ganado bovino y ovino; 3) urbano y rural; 4) forestal con bosques de *Pinus* spp., y 5) depósitos de desechos mineros (Fig. 5) (INEGI, 2010).

Figura 5



a)

b)



c)



d)



e)

Localidad de Nonoalco en Xochicoatlán, distrito minero de Molango, Hidalgo, una microcuenca con diferentes usos de suelo, a) rural, b) pastizales, c) mina de la compañía Autlán y asentamiento urbano, d) depósitos de desechos mineros, y e) cultivos agrícolas.

8. METODOLOGÍA

8.1. Trabajo de gabinete: recopilación y procesamiento de Información

Esta etapa consistió en la búsqueda de información (libros, artículos, mapas) durante el desarrollo de la investigación.

8.2. Trabajo de campo

Se realizó previamente el reconocimiento del área de estudio, en donde se eligieron tres sitios con diferente uso de suelo: sitio 1, agrícola; sitio 2, de vegetación natural y sitio 3, jales de manganeso. Se llevó un muestreo aleatorio simple de plantas y suelos el 13 de Julio del 2007.

El muestreo aleatorio simple es la técnica considerada como la más sencilla en el muestreo probabilístico. En ella, cada sujeto o unidad tiene una probabilidad igual y conocida de ser seleccionado. Supone que no existen razones para que un conjunto específico de la población sea seleccionado con prioridad a otro (Ruiz y Morillo, 2006).

En cada sitio fueron seleccionadas tres parcelas, a diferente distancia de la mina. Cada sitio presentó varias especies vegetales establecidas; se seleccionó una de ellas, la más representativa por su abundancia y alta producción de biomasa: sitio 1, *Zea mays* L.; sitio 2, *Ambrosia psilostachya* DC. y sitio 3, *Poligonum hydropiperoides* Michx. (Fig. 6). Las muestras de los sustratos fueron tomadas de los primeros 20 cm; en cuanto a las plantas, se consideraron tallos, hojas y raíces.

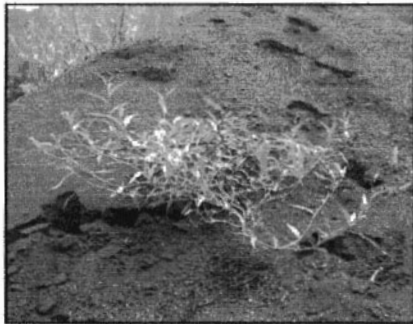
Las muestras de sustratos y vegetación fueron tomadas con palas y se colocaron en bolsas de polipapel. Los tallos, hojas e inflorescencias de las plantas fueron prensadas para su identificación posterior.

Figura 6



a)

b)



c)

Especies vegetales seleccionadas en cada uno de los tres sitios, en el poblado de Nonoalco, Hgo. a) *Z. mays* L., b) *A. psilostachya* DC., c) *P. hydropiperoides* Michx.

8.3. Trabajo de laboratorio

8.3.1. Preparación de las muestras de sustrato

1.5 kg de los sustratos fueron secados durante 3 días a temperatura ambiente, molidos y tamizados en un tamiz de malla de 2.0 mm. La caracterización física y química de los sustratos se realizó con base en los lineamientos comprendidos en la Norma Oficial Mexicana-021-SEMARNAT (2000) como se muestra a continuación.

8.3.1.1. Densidad aparente (método de la probeta)

Es la relación entre el espacio ocupado por los sólidos y los espacios de los poros en conjunto, no obstante, este método puede llegar a incluir a ambos.

Procedimiento. Se pesó una probeta de 10 ml vacía, posteriormente se le agregó sustrato hasta los 10 ml y se golpeó ligeramente (10 veces) sobre una franela, se agregó sustrato nuevamente hasta el volumen señalado. Se realizaron los siguientes cálculos.

$$D_a = \frac{\text{Peso del suelo seco (g)}}{\text{Volumen de la probeta (cm}^3\text{)}}$$

8.3.1.2. Densidad real por el método del picnómetro

La densidad real de un sustrato puede ser calculada a partir de la masa y el volumen de una cierta cantidad del sustrato; es decir, es la relación entre el peso

de las partículas sólidas secas en la estufa y el volumen de un líquido desplazado por ellas.

Procedimiento. Se pesó un picnómetro limpio y perfectamente seco donde se depositaron 5 g de sustrato; se anotó el peso del picnómetro con sustrato manteniendo el matraz completamente limpio (evitando la humedad y/o grasa en las manos). De forma posterior, se adicionó agua fría hasta la mitad del volumen del matraz girándolo con delicadeza con la finalidad de eliminar burbujas de aire. Se dejó reposar por 30 min para después agregar agua hasta aforar y se secó de manera meticulosa el exterior para después pesarlo. El matraz fue vaciado, enjuagado y secado en su totalidad, para más tarde aforarlo con agua destilada; se pesó el picnómetro con agua para realizarse los siguientes cálculos:

$$Dr = \frac{S}{(S+A) - (s+a)}$$

En donde:

S = peso del sustrato expresado en g

A = peso del agua

s+a = peso del sustrato y agua mezclados

8.3.1.3. Espacio poroso

El espacio poroso es la porción de volumen que no está ocupada por los sólidos orgánicos o minerales. Bajo condiciones de campo, los espacios porosos están ocupados todo el tiempo por aire y agua.

Procedimiento. Fue calculado a partir de la siguiente fórmula:

$$\%Ep = \left(\frac{1 - Da}{Dr} \right) 100$$

En donde:

Da = densidad aparente

Dr = densidad real

8.3.1.4. Humedad por gravimetría

Este método es empleado para determinar el contenido de humedad en sustratos orgánicos o minerales. Se basa en la medición de la cantidad de agua expresada en gramos que contiene una muestra de sustrato; esta masa de agua se referencia con respecto a la masa de sustrato seco de la muestra.

Procedimiento. Se utilizaron crisoles previamente pesados en los que se colocaron 30 g de sustrato húmedo y nuevamente se pesaron. A continuación fueron colocados en una estufa a una temperatura de 105° C durante 24 h; una vez pasado ese tiempo, el crisol fue pesado una vez más y se realizaron los siguientes cálculos.

$$\Theta g = \frac{(PB + Psh) - (PB + Pss)}{(PB + Pss) - PB} \times 100$$

Donde:

Θg = contenido de humedad gravimétrica expresado en porcentaje (%)

PB = peso del crisol (g)

Psh = peso del sustrato húmedo (g)

PB + Psh = peso del crisol más el peso del sustrato húmedo (g)

PB + Pss = peso del crisol más el peso del sustrato seco (g)

8.3.1.5. Textura (método del hidrómetro de Bouyoucos)

Proporciona una idea general de las propiedades físicas del sustrato. Su determinación es rápida. Esta prueba consiste en separar los agregados de

materia orgánica y analizar sólo las partículas y la floculación debida a los cationes calcio y magnesio. El tiempo de lectura es de 40 s para separar partículas de diámetro superior a 0.05 mm (arena) y de 2 h para partículas de diámetro superior a 0.002 mm (limo y arena). Estos límites han sido establecidos por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 1999).

Procedimiento. Se pesaron 55 g de sustrato y se colocaron en un vaso de precipitados de 500 ml; posteriormente se adicionaron 25 ml de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 8% y se mezclaron con agua destilada, para después secar a baño María. Una vez seco, se tomaron 50 g de sustrato para colocarse en un vaso de batidora y se agregaron 5 ml de oxalato de sodio ($Na_2 CO_3$) al 5% y metasilicato de sodio (Na_2SiO_3) al 5%; se adicionó agua hasta la segunda ranura del vaso y se agitó durante 10 min. Pasado este tiempo, la mezcla fue colocada en una probeta de 1000 ml y se completó el volumen con agua de la llave, se agitó durante 1 min con la finalidad de homogeneizar la muestra; se dejó reposar durante 40 s antes de tomar la primera lectura con el hidrómetro y el termómetro. Después de 2 h se tomó la segunda lectura.

Cálculos:

$$\% \text{ de limos} + \% \text{ de arcillas} = \frac{\text{Primera lectura (100)}}{\text{peso de suelo}}$$

$$\% \text{ de arena} = 100 - (\% \text{ de limos} + \% \text{ de arcillas})$$

$$\% \text{ de arcillas} = \frac{\text{Segunda lectura (100)}}{\text{peso de suelo}}$$

$$\% \text{ de limos} = \text{a la resta del \% limos + el \% de arcillas}$$

Después de realizados los cálculos se revisó el triángulo de texturas:

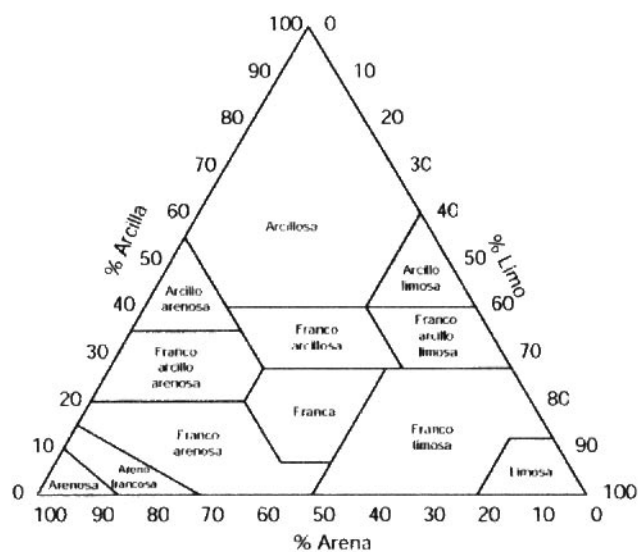


Fig. 7. Triángulo textural según la clasificación del USDA (1999).

8.3.1.6. pH relación 1:2.5

Indica la relación de iones hidrógeno presente en determinadas sustancias; es uno de los parámetros más usados para el análisis de los sustratos ya que refleja

características fundamentales, debido a que el pH controla las reacciones químicas y biológicas.

Procedimiento. Se pesaron 10 g de sustrato en un frasco de cristal y posteriormente se adicionaron 25 ml de agua destilada, se agitó durante 30 min para después medir el pH con un potenciómetro previamente calibrado con una solución amortiguadora de pH 7. Los resultados se clasificaron de acuerdo con los siguientes criterios:

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente ácido	5.1 - 6.5
Neutro	6.6 - 7.3
Medianamente alcalino	7.4 - 8.5
Fuertemente alcalino	> 8.5

8.3.1.7. Materia orgánica por el método de Walkley y Black (1947)

El contenido de materia orgánica es un buen indicador de la fertilidad de los sustratos; está en función de factores como el clima, vegetación original del sustrato, así como el drenaje. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico por medio de una disolución de dicromato de potasio.

Procedimiento. Se colocaron 0.5 g de sustrato seco en un matraz Erlenmeyer de 500 ml, se adicionaron 10 ml de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1N girando el matraz con cuidado; posteriormente con una bureta se agitaron 10 ml de ácido

sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y se agitó durante 1 min. Después de 30 min de reposo, fueron añadidos 200 ml de agua destilada y 5 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4) concentrado. Enseguida se agregaron 10 gotas del indicador de difenilamina y por último se tituló con la disolución de sulfato ferroso (FeSO_3) gota a gota hasta un punto final verde claro.

Se realizaron los siguientes cálculos:

$$\% \text{ C} = \left(\frac{\text{B} - \text{T}}{\text{g}} \right) (\text{N}) (0.39)$$

Donde:

B = volumen de sulfato ferroso gastado para valorar el blanco de reactivos (ml)

T = volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra

N = normalidad exacta del sulfato ferroso (valorar por separado al momento de analizar las muestras)

g = peso de la muestra empleada (g)

mcf = factor de corrección de humedad

% materia orgánica = % C orgánico x 1.72

8.3.1.8. Nitrógeno total

El N total se determina frecuentemente en los análisis de rutina en sustratos, sin embargo, es escasa su utilidad como indicador de su disponibilidad para las plantas debido a que la mayor parte del N se encuentra en forma orgánica con muy bajas tasas de mineralización.

Cálculos

$$\% \text{ N total} = (V_m - V_b) \times N \times 14 / p \times 10$$

N = normalidad exacta del ácido sulfúrico

14 = peso equivalente del nitrógeno

Donde

10 = factor de conversión a porcentaje

V_b = volumen de la base

p = peso de la muestra de sustrato en gramos (g)

V_m = volumen de ácido sulfúrico empleado en titular la muestra

8.3.1.9. Concentración de Ca²⁺ y Mg²⁺ Intercambiables estimados con acetato de amonio

Estos elementos presentan un amplio ciclo en la naturaleza, en el cual los sustratos conforman un segmento. La corteza terrestre contiene aproximadamente

4.2% de Ca^{2+} y 1.95% de Mg^{2+} , ocupando el quinto y octavo lugar, respectivamente. El Ca^{2+} en sustratos no calcáreos y regiones no áridas es bajo y se considera que el mineral primario es la anorita, su fuente principal; al mismo tiempo, el Ca^{2+} se considera un macronutriente esencial para las plantas y algunos organismos.

En cuanto al Mg^{2+} su contenido puede variar, la mayor fracción se encuentra asociada a algunos minerales primarios; en las plantas forma parte de la molécula clorofila, participante fundamental en la fotosíntesis.

Procedimiento. Se depositó 1 g de sustrato en un tubo de centrifuga, posteriormente se agregaron 5 ml de acetato de amonio 1N, se agitó durante 3 min; se adicionaron otros 5 ml de acetato de amonio y se centrifugó durante 5 min a 3,000 rpm; finalmente se guardó el centrifugado para titular con EDTA.

Se realizaron los siguientes cálculos:

$$\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} = \frac{\text{ml de EDTA (5)(N real)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} (100)$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{\text{ml de EDTA (5) (N real)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} (100)$$

8.3.1.10. Na^+ y K^+ Intercambiables

Para llevar a cabo este procedimiento sólo fue necesario calibrar el flamómetro con las soluciones de Na^+ y K^+ a 10, 20, 40 y 60 mg kg^{-1} y a partir de la alícuota obtenida de Ca^{2+} y Mg^{2+} , se leyeron las muestras.

8.3.1.11. Capacidad de Intercambio catiónico

Se refiere a la capacidad de adsorber o ceder cationes; está dado por la suma de cationes intercambiables adsorbidos por un sustrato.

Procedimiento. 1 g de sustrato fue depositado en un tubo de centrifuga, se agregaron 5 ml de cloruro de calcio (CaCl_2) 1 N, pH 7 y se agitó; más tarde se añadieron otros 5 ml de CaCl_2 con una piceta lavando el agitador y cuidando que el tubo no quedara demasiado lleno. Se centrifugó durante 5 min a 3,000 rpm y se desechó el sobrenadante (este procedimiento se repitió cinco veces). Después y de la misma manera se agregó alcohol etílico cinco veces desechando el centrifugado; por último se adicionó cloruro de sodio (NaCl), se agitó y centrifugó cinco veces conservando el sobrenadante con la finalidad de utilizarlo en la titulación.

Para la titulación se tomaron 5 ml de alícuota y 10 ml de solución amortiguadora pH 10, después se agregaron 5 gotas de clorhidrato de hidroxilamina $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 5 gotas de cianuro de potasio (KCN) al 2%, 5 gotas de negro de endicromo T y por

último se tituló con versenato (EDTA) 0.02 N hasta que adquirió una tonalidad de púrpura a azul.

Cálculos:

Donde:

$$CIC = 200 (V) (N)$$

V = volumen (ml) de HCl empleado al titular lo destilado en la solución borada

N = normalidad del HCl

$$200 = \frac{100}{\text{Alícuota}} \times \frac{100}{\text{PESO DEL SUELO}}$$

Alícuota = 10 ml

Peso de sustrato = 5

8.3.1.12. Fósforo asimilable (Método de Bray y Kurtz, 1945)

El P constituye el 0.12 % de la corteza terrestre y se conocen cerca de 150 minerales que lo contienen; las necesidades de P se cubren con la explotación de yacimientos en donde se encuentra en forma de apatitas, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. El contenido en los sustratos puede variar; por ejemplo, en sustratos minerales de áreas templadas es relativamente bajo, mientras que en sustratos jóvenes derivados de cenizas volcánicas se presenta en niveles más elevados. El método de Bray y Kurtz es considerado principalmente como un índice de P aprovechable en los sustratos.

Procedimiento. Se pesó 1 g de sustrato y se colocó en un embudo con papel filtro, enseguida se agregaron 7 ml de solución extractora y se agitó durante 1 min; más tarde se tomó 1 ml del filtrado y se adicionaron 6 ml de agua destilada y 2 ml de solución de molibdato de amonio $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Después se añadió una solución de cloruro estañoso $(\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ previamente diluido, y por último la concentración fue estimada en el espectrofotómetro.

8.3.1.13. Determinación de nutrimentos asimilables por DTPA (Lindsay y Norvell, 1978)

Se depositaron 10 g de sustrato en un matraz de 125 ml, posteriormente se agregaron 30 ml de la solución extractora de DTPA y se agitó durante 2 h; por

recomendación de otros autores las muestras fueron centrifugadas a 300 rpm durante 5 min. A continuación la muestra fue filtrada a través de un papel Whatman 42 y se guardó en frascos pequeños para ser analizada por espectroscopía de emisión atómica de plasma por acoplamiento inductivo (ICP).

8.3.1.14. Óxidos metálicos

El análisis de óxidos metálicos (SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , MnO , MgO , CaO , Na_2O , K_2O) se realizó en una muestra fundida (perla), preparada al mezclar 1 g de muestra en polvo con 9 g de mezcla fundida $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ - LiBO_2 (50:50 peso:%) en un crisol de Pt/5%Au y calentado a 1100°C en un hornillo equipado con quemadores Fisher y moldes para la preparación simultánea de tres perlas (Fluxy Claisse). Previo al calentamiento se agregaron dos gotas de LiBr en solución acuosa a una concentración de 250 g l^{-1} . La solución de LiBr actúa como agente no mojante, favoreciendo que la perla se despegue del molde durante el proceso de enfriado.

Como complemento del análisis de elementos mayores, se requirió la determinación de la pérdida por calcinación (PXC), a 1000°C por 1 h, 1 g de muestra en base seca en un crisol de porcelana y dejando enfriar lentamente hasta temperatura ambiente para obtener el peso calcinado.

El cálculo de la PXC fue como sigue:

$$(\%) \text{ PXC} = (\text{peso seco-peso calcinado}) 100$$

8.3.2. Preparación de las muestras de sustratos y tejidos vegetales para análisis biológicos

Para los análisis biológicos, las muestras de sustratos así como de plantas fueron colocadas en bolsas de polipapel y almacenadas a 4°C. Tallos, hojas e inflorescencias de las especies vegetales colectadas en campo fueron colocadas en una prensa botánica para su identificación.

8.3.2.1. Identificación de plantas

Los diferentes tejidos colectados (tallos, hojas, flores y, en algunos casos la raíz), permitieron identificar hasta especie las tres plantas con base en sus características morfológicas, con el auxilio de un microscopio estereoscópico y consultando literatura especializada (López, 1988; Rzedowsky y Calderón, 2001).

8.3.2.2. Determinación del contenido de nutrimentos en tejidos vegetales por el método húmedo (Piper, 1994; Plank 1992)

El análisis del contenido de nutrimentos en tejidos vegetales, es útil para el estudio de las interrelaciones entre las propiedades del sustrato y la composición química de las plantas, por ejemplo el contenido de nutrimentos en los tejidos entre la actividad química en el sustrato

Procedimiento. Muestras de vegetación tomando en cuenta partes aéreas (tallos y hojas) y raíces por separado, fueron enjuagadas con agua deionizada; posteriormente se colocaron en bolsas de papel y se secaron a 65° C por 24 h; una vez seca la muestra se molió a textura fina en un molino de aspas de acero inoxidable.

Se tomó 1 g de muestra y se colocó en un matraz, se adicionaron 5 ml de ácido nítrico (HNO_3) toda la noche a temperatura ambiente, con la finalidad de destruir los compuestos orgánicos. Después se agregaron 5 ml de ácido perclórico (HClO_4) y se colocó la muestra en un plato caliente; a medida de que la digestión aumentaba la temperatura se elevaba. Una vez terminada la digestión, se tomaron de 1 a 2 ml de muestra y se completó el volumen hasta 10 ml con agua deionizada; posteriormente se filtró a través de un papel Whatman 42 y se guardó con la finalidad de determinar las concentraciones de nutrimentos por espectroscopía de emisión atómica de plasma por acoplamiento inductivo (ICP).

8.3.2.3. Tinción de raíces y estimación de los niveles de micorrización

Para la cuantificación del grado de colonización de las raíces se siguió el método de aclaramiento y tinción. Las raíces de las plantas fueron digeridas con KOH al 10% y teñidas con azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970) en lactoglicerol. Por último, fueron enjuagadas con agua destilada y colocadas en un portaobjetos con ácido láctico para su observación al microscopio óptico (Ingham y Wilson, 1999).

Los niveles de micorrización fueron calculados considerando la frecuencia de micorriza en el sistema radical (F%), la intensidad de la colonización micorrízica en el sistema radical (M%) y en los fragmentos de raíz (m%), así como la abundancia de arbusculos en los fragmentos micorrizados (a%) y en el sistema radical (A%) (Trouvelot *et al.*, 1986), utilizando el programa Myccalc (www.dijon.inra.fr/bbceipm/Mychintec/). Al mismo tiempo se registró la presencia de los distintos morfotipos de micorriza arbuscular: *Paris* y *Arum* (Dickson *et al.*, 2007).

8.3.2.4. Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízico arbusculares

La extracción de esporas a partir del sustrato se realizó con base en la técnica de tamizado en húmedo y decantación (Gerdeman y Nicholson, 1963), con centrifugación en gradiente de sacarosa al 60%. Para ello, 250 g de sustrato fueron diluidos en 2 L de agua y agitados durante 5 min y, después de 2 min la suspensión se vertió a través de tres tamices (960, 59 y 2.38 μm de malla). Este procedimiento se repitió diez veces como mínimo.

De lo anterior, 5 ml de la suspensión de esporas retenidas en el tamiz más fino fueron depositados en tubos de centrifuga, se adicionaron a continuación 5 ml de una solución de sacarosa al 60 %; se centrifugó a 3000 rpm durante 3 min. De la interfase formada entre el agua y la solución de sacarosa se tomaron las esporas cuidadosamente con una jeringa y se filtraron a través del tamiz más fino, lavando

abundantemente con agua durante 3 min. Finalmente fueron vertidas las esporas en una caja de Petri para su observación y conteo al estereomicroscopio.

El campo del microscopio fue dividido en cuatro cuadrantes (Fig. 8). Se eligió un cuadrante en donde fue llevado a cabo el conteo y el resultado se multiplicó por 4 para estimar el número de esporas en todos los cuadrantes.

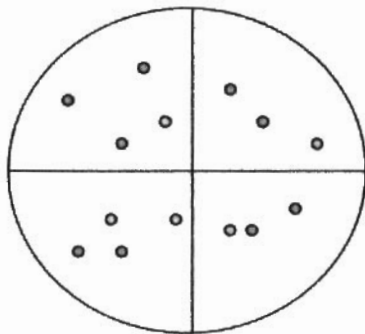


Figura 8. Conteo de esporas en caja de Petri dividida en cuatro cuadrantes

8.4. Análisis de resultados

Los resultados de las diferentes variables fueron ordenados y analizados con el empleo de programas como Statistica 99 y Excel 2007. Se realizó un análisis de componentes principales considerando todas las variables; también se llevaron a cabo relaciones lineales entre las variables de mayor interés.

El análisis de componentes principales es una herramienta estadística que permite la síntesis de información o reducción de la dimensión; en este análisis no se parte de una hipótesis previa, es un método descriptivo que ayuda a obtener una representación de los casos en un nuevo espacio dimensional, el cual permitirá determinar el número de componentes que interesa retener (Guisande *et al.*, 2006).

Normalmente el análisis de componentes principales no se lleva a cabo con las variables originales, sino con los valores estandarizados o transformados. La transformación consiste en restar la media y dividir por la desviación típica, con que se pretende impedir que las variables con mayores varianzas puedan dominar los resultados (Guisande *et al.*, 2006).

La regresión lineal simple es útil para averiguar la forma probable de las relaciones entre las variables y el objetivo final es predecir o estimar el valor de una variable que corresponde al valor dado de otra (Daniel, 2006).

9. Resultados y discusión

Como era de esperarse, el elemento asimilable que se presentó en las concentraciones más elevadas en los sustratos de los tres sitios fue el Mn (42.6-58 mg kg⁻¹); estos niveles fueron 25% inferiores en el sitio 1 con respecto al 2 y 3 (Tabla 3). De acuerdo con el Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas elaborado por Castellanos *et al.* (2000), estos niveles de Mn están clasificados como altos en el sitio 1 y muy altos en los demás casos debido a que superan los 50 mg kg⁻¹.

En un estudio previo realizado en sustratos de la zona minera de Nonoalco, se reportaron niveles de Mn disponible de 67 mg kg⁻¹ pero no se especifica la ubicación exacta del sitio ni su cercanía con la mina (Rodríguez-Agudelo *et al.*, 2006). Por su parte, Hernández (2008) detectó en desechos mineros de Nonoalco, semejantes a los del sitio 3 de esta investigación, concentraciones de Mn de 74 mg kg⁻¹. Los montos del elemento en los sustratos de ambos trabajos precedentes, también considerados como elevados son consistentes con los observados en la presente investigación y son. Por su parte, Ortega (2005) al analizar sustratos de Molango procedentes de huertas familiares cultivadas con frutales, registró niveles de Mn de 11.6 mg kg⁻¹, consideradas como adecuadas (Castellanos *et al.*, 2000). En zonas mineras en Zacatecas se detectaron niveles de Mn disponible de 6.5 a 68.8 mg kg⁻¹, variación debida a que los sustratos provenían de diferentes minas y a que las muestras fueron tomadas en distintos puntos dentro de cada sitio (Carrillo y González-Chávez, 2006). Finalmente, en un

trabajo desarrollado en jales históricos (1905-1946) en el distrito minero de Guanajuato, se reportó que el contenido de Mn total fue mayor con 862 mg kg^{-1} que en jales recientes con 509 mg kg^{-1} (Medel *et al.*, 2008).

De lo anterior se puede concluir que la concentración de Mn disponible es variable en los sustratos que están bajo la influencia de la actividad minera, aspecto claramente observado en Nonoalco. La toxicidad del Mn contenido en los sustratos hacia la vegetación estará determinada por algunos factores físicos y químicos como se menciona a continuación.

9.1 Características físicas de los sustratos en los tres sitios

En el caso del sitio 1, el porcentaje de arcillas fue de 35.4%, 29% de arenas y de limos 35.7 %, con una clase textural limosa. En el sitio 2 los niveles alcanzaron 20.2% de arcillas, 34.1% de arenas y 45.8% de limos con una textura igual a la del sitio 1 (Tabla 2). Como ya se había mencionado, la presencia de partículas finas en los sustratos puede contribuir a una mayor disponibilidad del Mn; en los sitios 1 y 2 el contenido de limos puede amortiguar la toxicidad del Mn hacia los vegetales como lo menciona Arines *et al.* (1989).

Tabla 2. Características físicas de los sustratos en los tres sitios

Sitios	Partículas del suelo			Clasificación textural			
	Arcillas	Arenas	Limos		Humedad	Da	Dr
			%		%		g cm ⁻³
Sitio 1							
P1	23.13	36.25	40.61	Limosa	27.52	0.91	2.26

En el sitio 3 dominaron las arenas con una media de 86.9%, mientras que las arcillas alcanzaron sólo un 1.2% y los limos un 11.9%; la clase textural fue arenosa. En este tipo de textura la disponibilidad del Mn para las plantas suele ser más baja (Ginés, 2003); sin embargo, debido a que el sitio 3 es un depósito reciente de desechos mineros donde hay adición constante de materiales como resultado de la extracción de Mn, implica un mayor riesgo para el entorno ya que está expuesto a factores como el viento o el agua. Al no existir estabilidad en los sustratos, se favorece el arrastre de las partículas finas, contaminando otros sitios (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006).

El sitio 1 retuvo más humedad con una media de 28.8%, seguido por el sitio 2 con 27.6%, mientras que el sitio 3 sólo presentó un 20%. La mayor retención de humedad en los sitios 1 y 2 es consistente con su alto contenido de limos y arcillas; los menores niveles de humedad en el sitio 3 están relacionados con su alto contenido en arenas y muy escasa cobertura vegetal.

El drenaje junto con la humedad pueden influir en la reducción de la solubilidad del Mn y Fe en los sustratos. En sustratos ácidos con mayor humedad, se fomentará la formación de formas oxidadas de Fe y Mn (producto de una reacción biológica), que pueden llegar a ser menos solubles (Foth, 1990). En algunos casos la humedad afecta los procesos de biorremediación debido a que los organismos necesitan agua para subsistir; si el contenido de agua es muy bajo, la actividad

biológica se detiene y si es muy alto disminuye el intercambio gaseoso a través del suelo (Volke *et al.*, 2005).

La granulometría y la capacidad de retención de agua de un suelo varían en función de las fracciones orgánicas y minerales. Sustratos con materiales no consolidados como las arenas presentan poros de mayor tamaño, por lo que la permeabilidad y la aereación son mayores. La capacidad de retención de agua en un suelo aumenta proporcionalmente con el contenido de materia orgánica y partículas finas (Volke *et al.*, 2005).

Respecto al espacio poroso en los tres sitios, los resultados (59.5-66.5%) indican que no hay compactación; son sustratos capaces de retener la humedad y elementos nutrimentales indispensables para el sostenimiento de la vegetación (Pritchett, 1986).

La densidad es uno de los factores que influyen en la porosidad de un suelo. La densidad aparente en los sitios 1 y 2 estuvo comprendida entre 0.88-0.95 g cm⁻³, lo que es posible atribuir a los mayores porcentajes de partículas finas y compuestos orgánicos (ver sección siguiente); la materia orgánica influye en la densidad al incrementar la estabilidad de los agregados del suelo (Thompson y Troeh, 2002). El sitio 3 presentó una media de 1.2 g cm⁻³ como resultado de su

alto contenido en pirolusita, del tamaño de arenas gruesas y de la escasa presencia de materia orgánica en los jales de deposición continua (Thompson y Troeh, 2002). Finalmente, la densidad real en los tres sitios estuvo comprendida entre 2.2 y 3.2 g cm⁻³, lo que sugiere la presencia de minerales primarios.

La textura es un factor que determina la disponibilidad del Mn; existe una relación positiva entre el Mn disponible y el contenido de arcillas, lo que se explica por el hecho de que las partículas finas adsorben el Mn en su superficie (Ginés, 2003). Otros factores físicos que también influyen en la disponibilidad del Mn son la humedad, la densidad y el espacio poroso; en suelos con poca aereación los iones solubles manganosos tienden a disminuir; en ausencia de oxígeno las raíces de las plantas dejan de acumular Mn. Normalmente, tanto en los suelos como en los desechos mineros, la humedad, la densidad y el espacio poroso, varían con la profundidad, la textura, la presencia de capas cementadas y la cobertura vegetal (Labanauskas, 1973; Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006).

9.2. Características químicas de los sustratos en los tres sitios

El pH del suelo es un factor controlador de la disponibilidad del Mn; la solubilidad de éste es mayor en ambientes ácidos, pero disminuye a medida que los niveles se van acercando a la neutralidad; en suelos con pH cercano a 6.5, el Mn no está disponible para las plantas (Arines *et al.*, 1989).

Pese a que la disponibilidad del Mn es mayor a pH fuertemente ácido (Labanauskas, 1973), ello puede reducir el crecimiento vegetal pero no es capaz de desencadenar la aparición de síntomas de toxicidad en la planta (Arines *et al.*, 1989).

De acuerdo con la NOM-141, los jales se pueden considerar como peligrosos cuando son generadores potenciales de acidez, o cuando contienen elementos tóxicos solubles en agua. Según los resultados de este estudio, los sustratos de los tres sitios no implican riesgo alguno contra los vegetales ya que no se encuentran en condiciones de extrema acidez por lo que ciertos elementos no están disponibles. Considerando la NOM-021, un pH moderadamente ácido es el que está comprendido entre 5.1 y 6.5, intervalo dentro del cual se encuentran los sitios 1 y 2 (cultivos de maíz y vegetación natural establecida). Tales niveles de pH pueden estar determinados por diversos factores como la presencia de minerales de arcilla, algunos compuestos orgánicos, la actividad microbiana y la humedad (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006; Carrillo y González-Chávez, 2006).

Por su parte, el sitio 3 cuya textura es más gruesa y las concentraciones de materia orgánica son bajas, posee un pH neutro con un valor promedio de 6.86, que puede atribuirse a la inestabilidad de los desechos mineros, la cual promueve que las partículas finas y orgánicas se remuevan y no generen acidez; otra razón podrían deberse a la reacción de carbonatos al presentarse en forma natural en los sustratos generando alcalinidad (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006; Carrillo y González-Chávez, 2006).

Los contenidos de materia orgánica y de carbono orgánico en el sitio 1 fueron bajos, con una media de 3.1 y 1.8%, respectivamente; en tanto, en el sitio 2 los niveles alcanzados son considerados como medios, con un promedio de 6.1 y 3.5 % en el mismo orden (Tabla 3). Con respecto al sitio 3, los niveles de materia orgánica y carbono orgánico fueron muy bajos (<0.5 %), lo cual es consistente con la escasa cobertura vegetal en comparación con los otros dos sitios. El contenido en N disponible en los sitios 1 y 3 fue bajo (0.02 a 0.15%), mientras que en el sitio 2 alcanzó niveles medios con un 0.31%.

Tabla 3. Características químicas de los sustratos en los tres sitios

Sitios					Macronutrientes						Micronutrientes			
	pH (H ₂ O)	MO	C	N	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	P	CIC	Al	Mn	Fe	Si
	01:02.5		%			meq/100g			mg kg ⁻¹	meq/100g			mg kg ⁻¹	
Sitio 1														
P1	5.68	4.87	2.71	0.24	14.67	8.50	6.81	3.50	3.67	11.33	2.92	23.65	47.70	0.00

Las concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} en los sustratos dependen del material parental y de su grado de intemperismo, es decir, en razón de la meteorización de minerales como calizas, dolomitas y yeso. En los suelos no calcáreos pueden llegar a alcanzar entre 0.15 y 1.5% y de 0.1 a 1.0% respectivamente; pero en suelos calcáreos los valores son superados en más de 20 veces (Fassbender y Bornemisza, 1994). Acorde con la NOM-021, los contenidos de Ca^{2+} y Mg^{2+} fueron altos en los tres sitios con valores de 14.3 a 26.7 % y de 8.8 a 17.6 %, respectivamente. Habitualmente, las concentraciones de Ca^{2+} son mayores que las del Mg^{2+} en los sustratos (Fassbender y Bornemisza, 1994); si los niveles de Ca^{2+} llegasen a rebasar en más de 15 meq/100 g al Mg^{2+} , ello podría causar una deficiencia en este último, la cual afectaría la vegetación.

Por otro lado, las altas concentraciones de Ca^{2+} tienden a precipitar algunos elementos como el Mn; asimismo, alcanzan a impedir los efectos tóxicos de otras sales que pueden estar en exceso (Ginés, 2003). El Mg^{2+} es fundamental en las reacciones del metabolismo energético en las plantas; forma parte integrante de la molécula de la clorofila, por lo que es esencial en la fotosíntesis (Bidwell, 1979).

De acuerdo con la NOM-021, los niveles de Na^+ y K^+ en los sitios 1 y 2 son considerados como medios con 7.9 y 8.3 meq/100 g para el primero, y de 4.3 y 4.6 meq/100g en el caso del segundo. En el sitio 3 estos iones fueron detectados en

concentraciones bajas con 2.9 meq/100 g de Na^+ y 1.6 meq/100g de K^+ , lo que sugiere que no hay problemas de salinidad (Cepeda, 2009).

El Na^+ y el K^+ son cationes de gran importancia y abundancia en los sustratos; son macronutrientes esenciales para la vegetación; en algunos casos cuando hay una deficiencia de K^+ este puede ser sustituido parcialmente por el Na^+ (Thompson y Troeh, 2002).

En sustratos cuyo pH es ácido, hay muy poco P disponible; la reacción más favorable para la asimilación de P por las plantas ocurre a pH de 6 a 7.5, valores que debieran ser ajustados para permitir su aprovechamiento (Bohn *et al.*, 1993). Los resultados de P disponible en esta investigación fueron de medios a bajos; el sitio 1 alcanzó los niveles más altos con 2.4 mg kg⁻¹ y pudiese deberse a la adición de fertilizantes químicos y/o orgánicos; en el sitios 2 fue de 0.9 mg kg⁻¹, mientras que en el sitio 3 los niveles fueron imperceptibles.

La capacidad de intercambio catiónico en el sitio 1 es considerada como baja con 12.1 meq/100 g; en los sitios 2 y 3 con 16.2 y 16.3 meq/100 g, respectivamente, son valores medios. Cuando los valores llegan a estar por debajo de los 10 meq/100 g existe una alta acumulación de minerales arcillosos secundarios, es decir, hay una mayor intemperización de roca. Si los valores de capacidad de

intercambio catiónico son altos hay una capacidad en los sustratos de almacenamiento de nutrimentos para las plantas (NOM-021; Buol *et al.*, 2008).

En el sitio 1 el Al, Fe y Zn fueron los micronutrientes más elevados; de acuerdo con la NOM-021 y Castellanos *et al.* (2000), los niveles fueron adecuados en el caso del Zn y elevados para el Fe. En los sitios 2 y 3, cuyos valores de pH fueron cercanos a la neutralidad, el contenido de Zn fue deficiente, mientras que el de Fe fue elevado.

Esto no significa que la toxicidad sea mayor en los sustratos del sitio 1, pues ello depende también del grado de acidez, de la capacidad de intercambio catiónico, de la concentración de materia orgánica y de la interacción con otros elementos (Manahan, 2007). Por ejemplo, a mayores niveles de Ca^{2+} la presencia del Fe se ve afectada en forma negativa; así también la aereación, el contenido de componentes orgánicos, la temperatura del suelo y la interacción con el Cu, Mn, Zn y P, pueden afectar la movilidad del Fe.

El contenido de Zn es afectado por la concentración de Cu, Fe y Mn; asimismo, la interacción del Zn con el P pueden influir en la disminución de los efectos tóxicos por estos elementos (Castellanos *et al.*, 2000; Foth, 1990). En el caso del Al, de acuerdo con Pratt (1973), los niveles en los tres sitios fueron bajos. Para que la disponibilidad del Al sea mayor, el pH debe ser inferior a 4; sin embargo, al igual

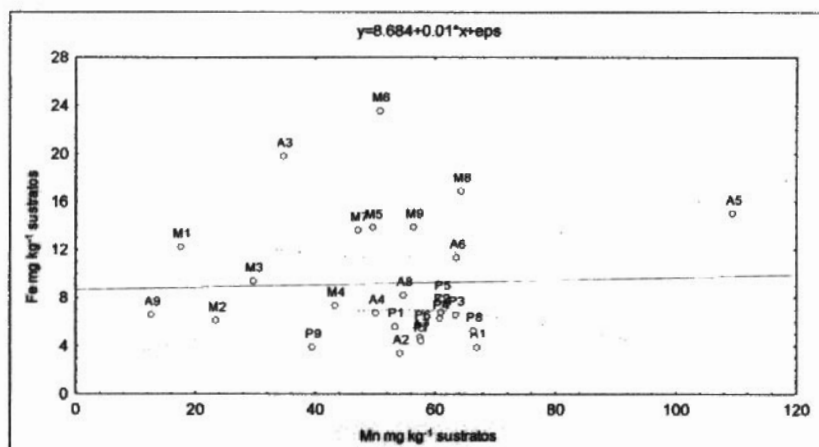
que en los otros elementos, la solubilidad no solo depende de esta condición ya que la presencia de P puede provocar su inmovilización. Por último cabe resaltar que el Si sólo fue detectado en el sitio 2 (0.14 mg kg^{-1}).

La materia orgánica tiende a afectar la disponibilidad potencial e inmediata de los micronutrientes. Algunos de los componentes orgánicos reaccionan con estos cationes o complejos acuosos insolubles, los que a niveles cercanos a un pH 6.5 junto con condiciones de poco drenaje y escasa aereación, pueden afectar la disponibilidad de Mn para las plantas provocando con ello un aumento de los iones solubles manganosos (Labanauskas, 1973).

El Mn interactúa con otros elementos como el Fe, Al y Ca^{2+} . Cuando estos tres elementos se encuentran en cantidades elevadas pueden provocar una deficiencia en Mn; en algunos casos el Fe es utilizado en cultivos para disminuir el exceso de Mn (Ginés, 2003).

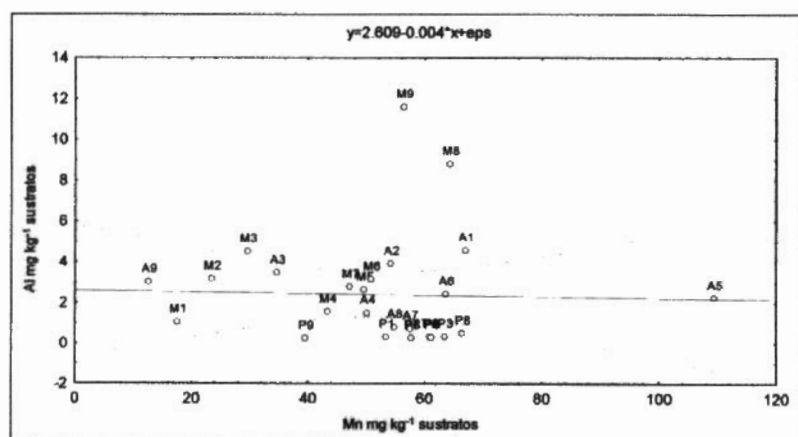
En las figuras 11, 12 y 13 se observa que cuando los niveles de Mn son más elevados, la presencia de Fe, Al y Ca^{2+} tiende a mantenerse baja.

Figura 11



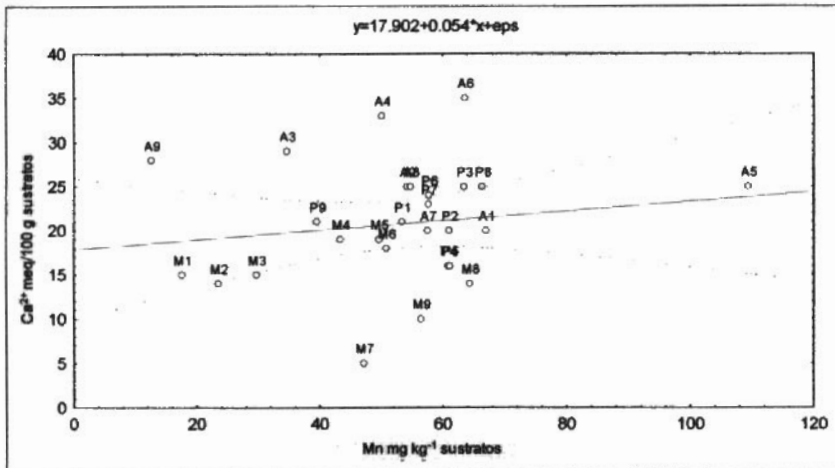
Interacción entre el Mn y el Fe en sustratos. M= sitio 1, A= sitio 2, P= sitio 3.

Figura 12



Interacción entre el Mn y el Al en sustratos. M= sitio 1, A= sitio 2, P= sitio 3.

Figura 13



Interacción entre el Mn y el Ca²⁺ en sustratos. M= sitio 1, A= sitio 2, P= sitio 3.

9.3 Óxidos totales en los sustratos

Existen minerales que componen parte de las rocas como son los óxidos, productos derivados de la meteorización de los suelos. A este respecto, el SiO₂ fue el que predominó en los tres sitios (28.8-60.3%) (Tabla 4), lo que indica la presencia de fracciones minerales primarias.

El MnO fue el segundo compuesto más abundante; en el sitio 3 estuvo presente en un 28%, es decir, casi 20 veces más que en el sitio 1 (1.5%), y el doble del sitio

2 (13.1%). Cuando se llegan a meteorizar los silicatos que contienen Mn como anfíboles y piroxenos, se oxida este último compuesto y se forman precipitados oscuros y complejos muy característicos de los sustratos de esta zona. También las condiciones de pH y óxido-reducción tienen gran influencia sobre los óxidos de Mn (Fassbender y Bomemisza, 1994).

El Al_2O_3 y el Fe_2O_3 fueron los siguientes compuestos más abundantes. Los niveles del primero fueron más altos en el sitio 1 (15.7%), intermedios en el sitio 2 (11.1%) y bajos en el sitio 3 (8%), donde alcanzaron la mitad del sitio 1. El Fe_2O_3 fue menor en el sitio 1 con concentraciones de 7.7%, seguido por los sitios 2 y 3, con 12.1% y 14.5 %, respectivamente. Los compuestos TiO_2 , MgO y P_2O_5 se presentaron en las concentraciones más bajas en los tres sitios (0.2-0.86 %) (Tabla 4).

En la tabla 4 puede observarse que a medida que el MnO aumentó, las concentraciones de Fe_2O_3 se incrementaron ligeramente, mientras que las de Al_2O_3 y SiO_2 disminuyeron.

Las relaciones molares $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ y $\text{SiO}_2/\text{Fe}_2\text{O}_3$ indican procesos bajos de intemperización del Si y Al, así como un desarrollo bajo de los sustratos, es decir,

fortalecen la idea de que los procesos de edafización son pobres (Acevedo y Flores, 2000).

Según la NOM-021, no existe una referencia bien definida para determinar si las concentraciones de óxidos metálicos son adecuadas, debido a que los procedimientos técnicos y sus conceptos se basan en metodologías analíticas internacionalmente aceptadas. Estas metodologías están contenidas en manuales de instituciones tales como el Centro de Información Internacional de Referencia de Suelos (ISRIC), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

Tabla 4. Contenido de óxidos totales en los sustratos de los tres sitios

Sitios	SiO ₂	TiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	MgO	P ₂ O ₅	SiO ₂ /Al ₂ O ₃	SiO ₂ /Fe ₂ O ₃
%									
Relación r									
Sitio 1									
Promedio	60.26	0.74	15.65	7.67	1.52	0.86	0.34	5.89	

9.4 Acumulación de nutrimentos en tejidos vegetales

La presencia de cobertura vegetal en los desechos mineros disminuye el impacto del viento evitando la dispersión de partículas en el aire; las raíces retienen los elementos y reducen la contaminación de mantos acuíferos por la lixiviación (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006).

En lo que concierne a la acumulación de nutrimentos en tejidos aéreos (Tabla 5), la planta *Z. mays* perteneciente al sitio 1, tuvo una tendencia a acumular más Ca^{2+} , Mg^{2+} y Na^+ con 9, 7.5 y 7.1 mg kg^{-1} , respectivamente. Los elementos que absorbió la gramínea en menores cantidades fueron el K^+ (3.3 mg kg^{-1}), P (2.1 mg kg^{-1}), Al (1 mg kg^{-1}), Mn (0.8 mg kg^{-1}) y Zn (0.03 mg kg^{-1}). En raíces, los contenidos de Fe, Ca^{2+} , y Al fueron los más elevados (10.2, 7.7 y 7.4 mg kg^{-1}).

Tabla 5. Nutrimientos absorbidos en tejidos vegetales

Sitios	Micronutrientes					Macronutrientes			
	Al	Mn	Fe	Si	Zn	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
mg kg ⁻¹									
Sitio 1: Zae maye									
P1	1.22	0.28	1.19	0.00	0.08	8.05	3.54	8.29	5.58
P2	0.54	0.69	0.77	0.00	0.03	8.73	2.66	7.17	5.86
P3	1.20	1.47	1.45	0.00	0.00	8.58	3.68	11.51	11.16
Promedio T/H	0.98	0.81	1.14	0.00	0.03	7.12	3.30	8.99	7.53
P1	7.71	0.61	7.60	0.00	0.00	7.12	7.31	4.86	2.07

Según los datos anteriores de acumulación de nutrimentos en maíz en partes aéreas y raíces, los niveles de Ca^{2+} son considerados como medios ya que están por arriba de 0.80 mg kg^{-1} (Chapman, 1973). El Fe es deficiente puesto que es muy inferior a 24 mg kg^{-1} (Wallihan, 1973); del mismo modo, el Mn se considera deficiente ya que las concentraciones son menores a 15 mg kg^{-1} (Loué, 1988). En el caso del Mg^{2+} , según Embleton (1973), los niveles acumulados fueron altos debido a que superan los 0.35 mg kg^{-1} . Asimismo, la concentración de P es elevada pues rebasa los 0.23 mg kg^{-1} (Bingham, 1973). El K acumulado es considerado como medio con una concentración de 3.3 mg kg^{-1} (Ulrich y Ohki, 1973).

A. psilostachya del sitio 2 acumuló en tallos y hojas más Mg^{2+} , Na^+ y Mn (7, 4.2 y 3.7 mg kg^{-1}), mientras que el K^+ , Ca^{2+} , Fe, Al, P y Zn estuvieron en concentraciones más bajas (2.5, 1.7, 1.5, 0.6, 0.2 y 0.01 mg kg^{-1}). En raíces los elementos más abundantes fueron Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Mn y Fe con 12.8, 7.6, 7.5, 6.2 y 6 mg kg^{-1} . *A. psilostachya* es considerada como una maleza capaz de establecerse en pastizales, adaptable al medio ruderal (orillas de caminos y parcelas, terrenos baldíos, lugares húmedos como orillas de canales de riego). Junto con *Artemisa artemisifolia*, ha sido reportada como especie tolerante y acumuladora de metales pesados (CONABIO, 2010). Por ejemplo, *A. psilostachya* establecida en Oklahoma cerca de vertederos de residuos peligrosos contaminados con Cd, Cr, Cu, Fe, Pd y Zn, es capaz de acumular Cd entre 95.5 y 268.4 mg kg^{-1} (Kapustka y Bermudez, 2000).

En *P. hydropiperoides* del sitio 3, los elementos predominantes en partes aéreas fueron el Mn, Ca²⁺, K⁺ y Mg²⁺ (9.8, 8.4, 6.6 y 5.4 mg kg⁻¹), seguidos por P, Na⁺, Fe y Al (1.4, 2.9, 2.7, 0.7 mg kg⁻¹). Respecto a las raíces, los más elevados fueron el Mn²⁺, Mg²⁺, Fe y K⁺ con (30.3, 12.2, 6.4 y 6 mg kg⁻¹); el Zn no fue detectado en esta especie, y en sustratos el contenido fue apenas de 0.01 mg kg⁻¹. *P. hydropiperoides* ha sido reportada como planta perteneciente a sistemas dulceacuícolas en México y Norteamérica, útil en programas de descontaminación; se ha encontrado establecida en sedimentos contaminados con Al, As, Cd, Cu, Fe, Pb, Hg, Ni y Zn en estanques de Carolina del Norte (USDA, 2010; Mallin *et al.*, 2002). Otra especie cercana a *P. hydropiperoides* es *P. aviculare*, considerada como una planta acumuladora de Zn (6249 mg kg⁻¹) detectada en sitios cercanos a desechos mineros en Zacatecas (Carrillo y González-Chávez, 2006).

Como se ha reportado en algunos estudios, diferentes sitios con desechos mineros conteniendo elementos tóxicos, han sido colonizados por vegetación que crece en forma espontánea (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006; Carrillo y González-Chávez, 2006). Estas especies son capaces de desarrollar mecanismos de tolerancia hacia las condiciones adversas de los sustratos y de acumular elementos en sus tejidos.

Las tres especies vegetales tendieron a acumular más Mn en raíces (63-76%) que en partes aéreas (24-37%). La planta establecida en los desechos mineros, *P. hydropiperoides*, fue la que más Mn absorbió con niveles promedio de 9.8 mg kg^{-1} en tallos/hojas, equivalente a un 24% del total, y de 30.3 mg kg^{-1} en raíces (76%), seguida por *A. psilostachya* con 3.7 mg kg^{-1} en tallos/hojas (37%) y 6.2 mg kg^{-1} en raíces (63%) y por último, *Z. mays* con niveles de 0.8 mg kg^{-1} en tallos/hojas (30%) y 1.8 mg kg^{-1} en raíces (70%) (Fig. 14). De acuerdo con estos resultados, ninguna de las tres especies vegetales captó Mn en niveles tóxicos, sino más bien en concentraciones consideradas como tolerantes con excepción de *Z. mays* donde la acumulación fue deficiente (Labanauskas, 1973; Loué, 1988; Licon *et al.*, 2001). Por tanto, ninguna de estas especies es hiperacumuladora de Mn puesto que no alcanzaron en sus tejidos los $10\,000 \text{ mg Mn kg}^{-1}$ peso seco (Pitman, 2005).

En un estudio previo llevado a cabo también en Nonoalco (Ortega, 2005), fue analizada la acumulación de Mn en tejidos aéreos de las especies de los árboles frutales *Prunus persica* (duraznero), *Citrus limon* (limonero), *C. sinensis* (naranja), *Malus pumila* (manzano), *Psidium guajava* (guayabo), *Persea americana* (aguacate), *Eriobotrya japonica* (nisperero), *Ficus carica* (higuera) y en una especie de pasto, *Cynodon pleystostachyus* (pasto estrella de África). El duraznero, limonero y pasto captaron Mn en niveles tóxicos con 152.7 , 431.2 mg y 440.7 mg kg^{-1} , respectivamente. Los montos de Mn acumulados por el pasto estrella de África son considerados como peligrosos; pueden ocasionar daños directos al ganado como neumonitis. Por su parte, Rodríguez-Agudelo *et al.*

(2006) al analizar la acumulación de Mn en maíz de Nonoalco detectaron niveles elevados de 304 mg kg^{-1} en hojas y 8.4 mg kg^{-1} en granos, mientras que en hojas de pasto del cual no especifican la especie, las concentraciones fueron considerados como normales con 135 mg kg^{-1} .

En un trabajo más reciente elaborado por Hernández (2008), las cuatro especies vegetales *A. psilostachya*, *Wigandia urens*, *Chenopodium ambrosoides* y *Cynodon dactylon*, establecidas en desechos mineros de Nonoalco, acumularon Mn de 4.4 a 17 mg kg^{-1} en partes aéreas y de 12.7 a 112.3 mg kg^{-1} en raíces, montos considerados como bajos.

Las diferencias detectadas en los estudios previos y en el presente trabajo en cuanto a las concentraciones de Mn en los sustratos y en los tejidos vegetales (Tabla 7), pueden deberse a la influencia de la mina en relación a la parcela donde fueron tomadas las muestras. También es necesario considerar otros factores como la especie o variedad vegetal y su tolerancia al Mn, la etapa en el ciclo de vida de la planta y la interacción planta/microorganismos del suelo. Particularmente, las variaciones en la acumulación de Mn en tejidos aéreos de maíz entre el trabajo de Rodríguez-Agudelo *et al.* (2006) y la presente investigación (304 y 0.81 mg kg^{-1} , respectivamente), radican probablemente en la etapa del ciclo de vida de la planta o en la variedad de la especie vegetal en el momento del muestreo. Asimismo, las divergencias en la acumulación de Mn en

A. psilostachya entre el trabajo de Hernández (2008) (4.38 y 112.3 mg kg⁻¹ en partes aéreas y raíces, respectivamente), y la presente investigación (3.73 y 6.24 mg kg⁻¹, respectivamente) tienen su variación principalmente en la calidad de los sustratos. La presencia de materia orgánica y algunos elementos influyen en forma negativa en la disponibilidad del Mn hacia la planta; a este respecto, los desechos mineros del sitio 3 son reportados como pobres en contenido de materia orgánica. Asimismo, *A. psilostachya* en esta investigación exhibió ciertos niveles de micorrización arbuscular, mientras que Hernández (2008) reportó niveles ínfimos de colonización micorrízica, situación que podría estar determinando la captación del elemento.

Tabla 7

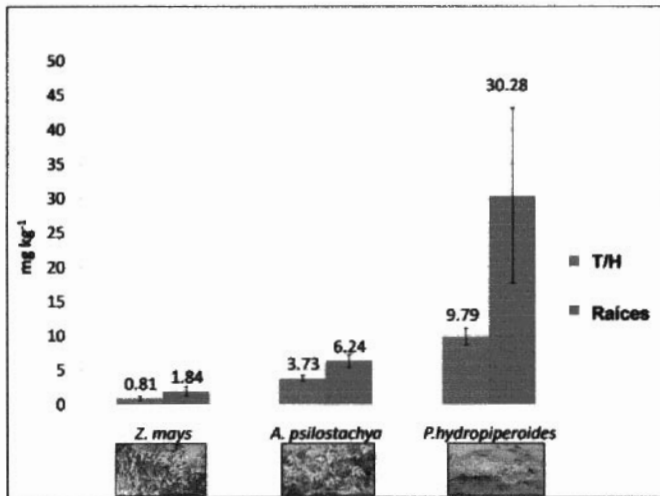
Especie vegetal	Mn mg kg ⁻¹			Cita
	Sustratos	T/H	Raíz	
<i>Ambrosia psilostachya</i>	56.06	3.73	6.24	Este trabajo
<i>Ambrosia psilostachya</i>	74.01	4.38	112.3	Hernández (2008)
<i>Chenopodium ambrosoides</i>	74.01	8.08	12.73	Hernández (2008)
<i>Citrus limon</i>	11.59	152.66		Ortega (2005)
<i>Citrus sinensis</i>	11.59	48.18		Ortega (2005)
<i>Cynodon dactylon</i>	74.01	5.96	46.3	Hernández (2008)
<i>Cynodon pleystostachyus</i>	11.59	440.66		Ortega (2005)
<i>Eriobotrya japonica</i>	11.59	133.16		Ortega (2005)
<i>Ficus carica</i>	11.59	76.16		Ortega (2005)
<i>Malus pumila</i>	11.59	33.58		Ortega (2005)
Pasto	67	135		Rodríguez-Agudelo <i>et al.</i> (2006)
<i>Persea americana</i>	11.59	129.83		Ortega (2005)
<i>Poligonum hydropiperoides</i>	57.98	9.79	30.28	Este trabajo
<i>Prunus persica</i>	11.59	431.16		Ortega (2005)
<i>Psidium guajava</i>	11.59	119.66		Ortega (2005)
<i>Wigandia urens</i>	74.01	16.97	14.54	Hernández (2008)
<i>Zea mays</i>	42.56	0.81	1.84	Este trabajo
<i>Zea mays</i>	67	304		Rodríguez-Agudelo <i>et al.</i> (2006)

Contenido de Mn en sustratos y su acumulación en tejidos de distintas especies vegetales establecidas en Nonoalco

En el presente estudio también se observó que la acumulación de Mn fue superior en raíces que en tallos y hojas. En otros trabajos como los de Arines *et al.* (1989), Malcová *et al.* (2003) y Khabaz-Saberi *et al.* (2010), la acumulación del elemento fue más elevada en partes aéreas que en raíces, al realizar experimentos en invernadero con diferentes especies vegetales como trébol, maíz y trigo, bajo distintas concentraciones de Mn. Diversos factores, entre los que se encuentran la composición del sustrato y la especie y/o variedad vegetal, pueden estar influyendo para que haya esta distribución diferencial de Mn por tejidos. La tolerancia de los tejidos varía de acuerdo con la especie y según la etapa del ciclo de vida de la planta. Por ejemplo, en soya se observó que después de 12 semanas de crecimiento las concentraciones de Mn alcanzaron 1300 mg kg^{-1} en partes aéreas y 3400 mg kg^{-1} en raíces (Nogueira y Nogueira, 2003). El tamaño de las raíces es un factor que también influye; en las plantas cuya biomasa radical es mayor existirá una acumulación más elevada de Mn en raíces que en tallos y hojas (Li *et al.*, 2010). Asimismo, Liu *et al.* (2000) detectaron que la presencia de polifosfatos en las raíces retienen algunos elementos como el Mn y Fe evitando su traslocación hacia los tejidos aéreos.

Según los resultados de la presente investigación, *Z. mays*, *A. psilostachya* y *P. hydropiperoides*, pueden ser consideradas como especies tolerantes no solo por su establecimiento en sustratos con altos contenidos de Mn, sino también por su capacidad de retención del elemento en las raíces evitando su transportación hacia tallos y hojas, contrarrestando los síntomas de toxicidad (Li *et al.*, 2010).

Figura 14



Niveles de Mn acumulados en partes aéreas (T/H) y raíces de las tres especies vegetales

9.5. Micorriza arbuscular

La especie *A. psilostachya* del sitio 2 fue la que presentó los más altos porcentajes de intensidad micorrízica en el sistema radical (M%), así como de abundancia de arbuscúlos (A%) con 30.4% y 3.03%, respectivamente, seguida por *Z. mays* con 9.8% (M%) y 1.21% (A%). *P. hydropiperoides*, proveniente de los desechos mineros, no presentó micorrización alguna.

Tabla 8. Porcentaje de colonización micorrízica en las tres especies vegetales

Sitios	F	M	m	a	A
%					
Sitio 1: <i>Zea mays</i>					
P1	90.00	9.71	10.76	17.57	1.85
P2	80.00	11.6	13.08	9.19	1.30
P3	68.89	8.09	12.61	5.45	0.49
Promedio	79.63	9.80	12.15	10.74	1.21
Sitio 2: <i>Ambrosia psilostachya</i>					
P1	83.33	20.38	24.70	14.70	3.38
P2	98.89	40.28	40.70	8.02	3.19
P3	92.15	30.64	32.14	6.74	2.51
Promedio	91.46	30.43	32.51	9.82	3.03
Sitio 3: <i>Poligonum hydropiperoides</i>					
P1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

(F%), frecuencia de la colonización micorrízica en fragmentos de raíz; (M%), intensidad de colonización micorrízica en el sistema radical; (m%), intensidad micorrízica en los fragmentos de raíz; (a%), abundancia de arbuscúlos en los fragmentos micorrizados; (A%), abundancia de arbuscúlos en el sistema radical.

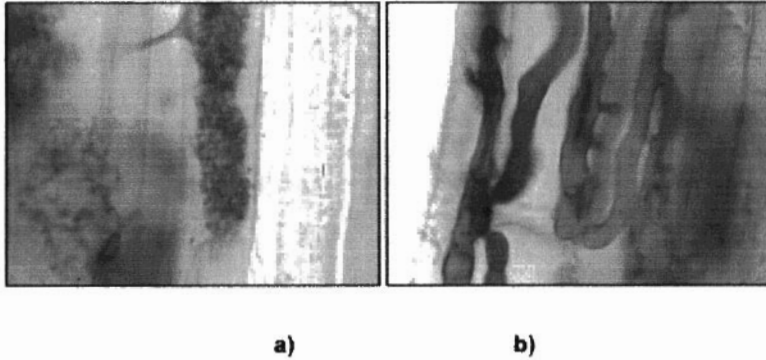
Se observaron en las raíces los dos tipos de morfología de micorriza arbuscular, *Arum* y *Paris* (Fig. 15). De acuerdo con Dickson *et al.* (2007) existen diferentes clases estructurales de micorriza arbuscular, basadas en la morfología fúngica interna: tipo *Arum*, en la que el hongo penetra en la epidermis e hipodermis y termina en forma de arbuscúlos intracelulares, y tipo *Paris*, donde el hongo es totalmente intracelular con hifas irregulares en forma de espiral.

En el caso de la vegetación de Nonoalco, *Z. mays*, proveniente de los campos de cultivo, presentó micorriza tipo *Arum* aunque puede manifestar ambas morfologías (*Arum* y *Paris*). En *A. psilostachya* del sitio de vegetación nativa, fue más frecuente el tipo *Paris*; sin embargo, también se detectó el tipo *Arum*. Por último, en *P. hydropiperoides* no se observó micorrización alguna en la raíz; sólo se lograron apreciar algunas hifas septadas, de color café o azul, con una morfología distinta a la que presentan los HMA.

Según Dickson *et al.* (2007), los géneros a los cuales pertenecen las tres especies vegetales estudiadas en este trabajo pueden presentar ambas morfologías. Para que estos tipos de morfología arbuscular se manifiesten ello dependerá de la especie fúngica y vegetal y de otros factores del sustrato como los niveles de metales pesados. A este respecto, en un estudio realizado por Vogel-Mikus *et al.* (2005) se observó que en *T. praecox* creciendo en suelos contaminados con Zn, Cd y Pb, el porcentaje de colonización micorrízica disminuyó en las plantas y se detectó micorriza tipo *Paris*; en contraparte, en los sitios no contaminados prevaleció el tipo *Arum*, con porcentajes de micorrización superiores.

También se ha reportado que algunas especies vegetales exhiben las dos morfologías en una misma planta como ocurrió en este estudio en *A. psilostachya* (Dickson *et al.*, 2007; Vogel-Mikus *et al.*, 2005).

Figura 15



Morfología micorrízico arbuscular en las raíces: a) tipo *Arum* en *Z. mays*, b) tipo *Paris* en *A. psilostachya*

Diversos estudios sobre la MA reportan una menor absorción de Mn en plantas micorrizadas que en aquellas no micorrizadas gracias a la participación de estructuras como el micelio extrarradical (Nogueira *et al.*, 2007).

A este respecto, la MA juega un papel clave en el establecimiento vegetal; algunas evidencias muestran que el micelio extrarradical parece estar involucrado en la retención de metales; por ejemplo, es capaz de acumular de 10 a 20 veces más Cd por unidad de biomasa en comparación con las raíces. El micelio extrarradical es fundamental pues es capaz de extenderse en la rizosfera permitiendo la colonización de raíces de otras plantas incrementando así el establecimiento de la vegetación (González-Chávez *et al.*, 2008).

Se han detectado moléculas secretadas por los HMA capaces de quelatar los elementos tóxicos, evitando la fitotoxicidad. Como ejemplo de estos procesos de descontaminación se encuentra la glomalina, una glicoproteína involucrada en la fijación de metales pesados, detectada en sustratos, micelio extrarradical y raíces (González-Chávez *et al.*, 2004).

El papel protector de la MA contra los metales pesados depende también de algunos factores como la especie vegetal y fúngica, el elemento y su disponibilidad, la fertilidad del suelo, la densidad de las raíces y la intensidad de la luz (Pawlowska y Charvat, 2004). Por ejemplo, plantas de soya inoculadas con *G. macrocarpum* acumularon los mayores niveles de Mn con 1300 mg kg^{-1} en partes aéreas, manifestando síntomas de toxicidad (Nogueira y Nogueira, 2003).

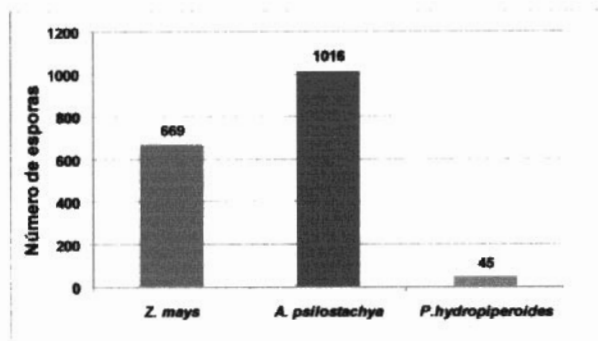
El número más alto de esporas de HMA en 250 g de sustrato (Fig. 16) fue observado en el sitio 2 con un promedio de 1,016 esporas, seguido por el sitio 1 con 669 (44 % inferior al sitio 2). Esto es consistente con los mayores porcentajes de intensidad micorrízica estimados en el sistema radical de las dos especies vegetales. La presencia de esporas en los sitios 1 y 2 puede estar siendo favorecida por la concentración elevada de materia orgánica y nutrientes, que por un lado ayudan a la germinación de esporas (fase presimbiótica), la proliferación fúngica en raíces y el desarrollo del micelio extrarradical y este a su

vez contribuye con la formación de nuevas esporas (fase simbiótica) (Pawlowska y Charvat, 2004; González-Chávez *et al.*, 2008).

En cuanto al sitio 3, el número de esporas fue muy bajo con una media de 45. A este respecto algunos hongos son afectados cuando hay una mayor disponibilidad de elementos tóxicos y una baja disponibilidad de materia orgánica (Pawlowska y Charvat, 2004).

Algunas de las esporas presentes en estos sitios pueden contribuir con la disminución de la toxicidad hacia la planta; se ha detectado que *Glomus* sp., *S. aurigloba*, *S. reticulata*, *Acaulospora* sp. y *S. gregaria*, provenientes de sitios con diferente uso de suelo (agrícola, urbano y forestal), son capaces de acumular Si, Al, Cu y Fe en forma diferencial (Pagano *et al.*, 2010).

Figura 16

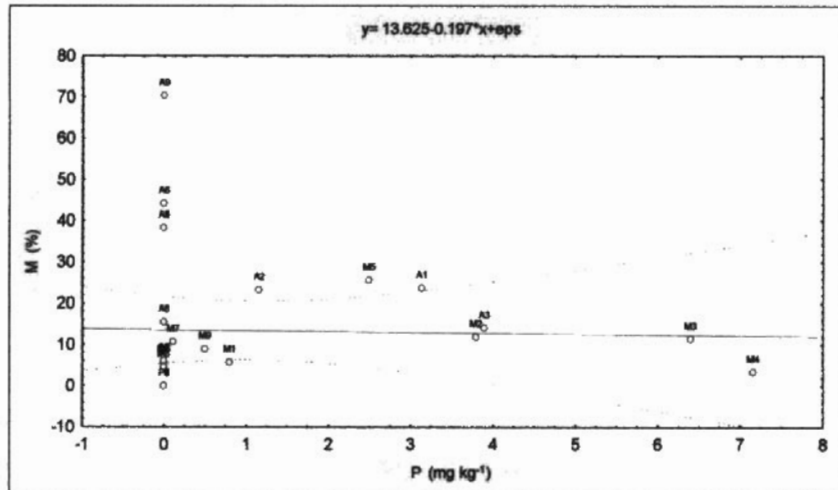


Número de esporas de hongos micorrízico arbusculares en 250 g de sustrato en los tres sitios.

La presencia de P en los sustratos influye en el desarrollo de la micorriza arbuscular; se ha detectado que hay un mayor volumen de hifas extrarradicales cuando sus concentraciones son bajas (Liu *et al.*, 2000). De acuerdo con los resultados, un análisis de regresión (Fig. 17) permite apreciar que el P influyó en el desarrollo de la micorriza; en el sitio 1 donde las concentraciones del elemento fueron las más altas (2.4 mg kg^{-1}), la intensidad micorrízica (M%) fue menor con una media de 9.8%; en comparación, en el sitio 2 donde los niveles de P fueron de 0.9 mg kg^{-1} , el porcentaje de intensidad micorrízica en el sistema radical alcanzó un 70.4 %. Por último, en el sitio 3 no se detectó P ni micorrización alguna.

La influencia de la micorriza en la adquisición de P se refleja en el incremento de la biomasa vegetal; de igual manera, el P puede reducir la toxicidad del Mn en los tejidos aéreos; sin embargo aun hace falta más conocimiento sobre cómo funcionan estos mecanismos (Liu *et al.*, 2000).

Figura 17

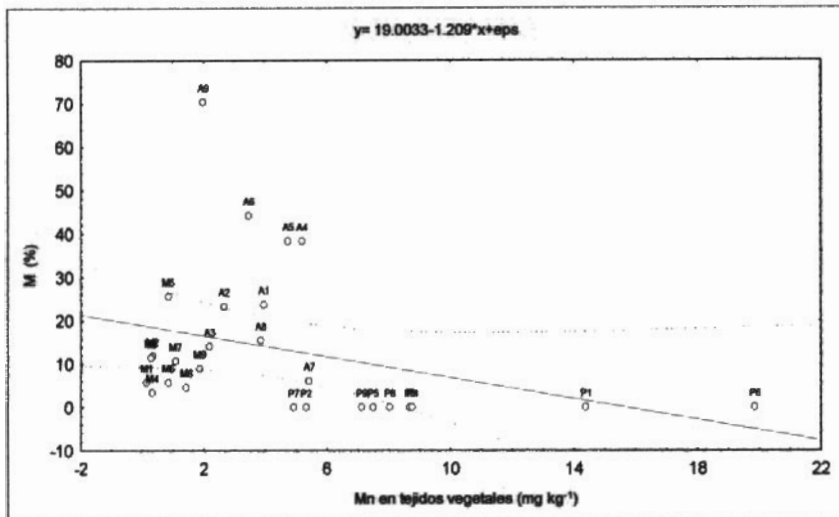


Relación entre el fósforo disponible en los sustratos y la intensidad micorrízica (M %) en el sistema radical de las tres especies vegetales, (M) *Z. mays*, (A) *A. psilostachya* y (P) *P. hydropiperoides*.

El coeficiente de correlación ($R=0.32$) indica que no hubo una relación muy alta entre la intensidad micorrízica en el sistema radical (M%) y el contenido de Mn en tejidos vegetales (Fig. 18). La vegetación de los sitios 1 y 2, *Z. mays* y *A. psilostachya*, presentaron niveles de intensidad micorrízica en el sistema radical

(M%) de 11.9% y 70.4 % respectivamente, con una abundancia de arbuscúlos de 1.2 y 3% (Tabla 8). Tales plantas absorbieron menores cantidades de Mn en sus tejidos con 0.8 mg kg^{-1} en tallos/hojas y 1.8 mg kg^{-1} en raíces de *Z. mays* y 3.7 mg kg^{-1} en tallos/hojas y 6.2 mg kg^{-1} en raíces de *A. psilostachya*.

Figura 18



Relación entre la intensidad de colonización micorrízica en el sistema radical (M %) y los niveles de Mn acumulados en tejidos vegetales, (M) *Z. mays*, (A) *A. psilostachya* y (P) *P. hydropiperoides*.

En contraparte, *P. hydropiperoides* perteneciente al sitio 3, no presentó micorrización y fue la especie que mayores niveles de Mn absorbió (9.8 mg kg^{-1} en tallos/hojas y 30.3 mg kg^{-1} en raíz).

9.6. Análisis de componentes principales

Un análisis de componentes principales considerando la textura, densidad real, densidad aparente, espacio poroso, humedad, pH, materia orgánica, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , capacidad de intercambio catiónico; Al, Mn, Fe, Zn, P en sustratos y contenido de macro y micronutrientes en tejidos vegetales con excepción del Si, permite apreciar que las variables se distribuyeron en una forma heterogénea en los cuatro cuadrantes. Las variables que están más cercanas entre sí en un solo cuadrante y a corta distancia, mayor relación guardan entre ellas (Fig. 19).

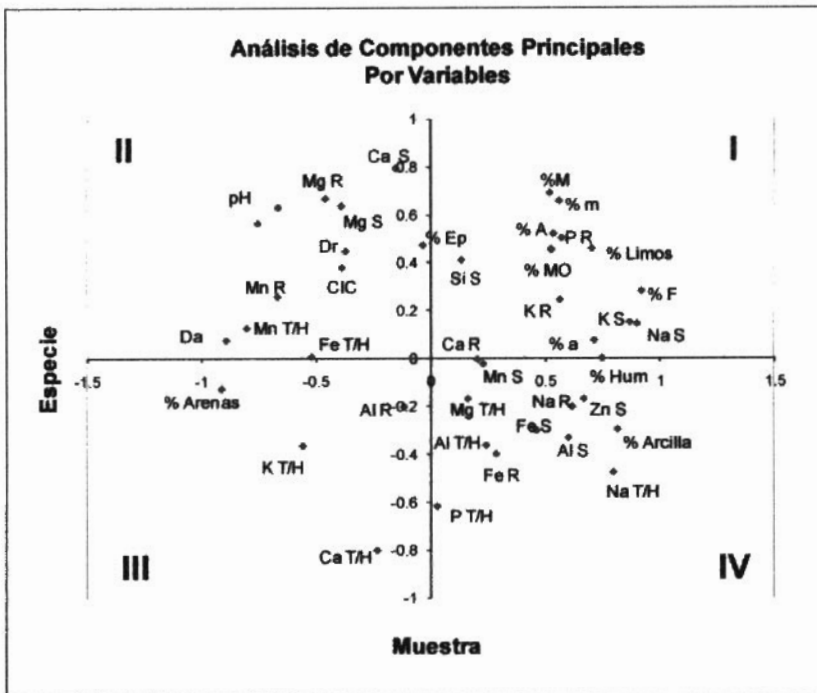
Por ejemplo, en el cuadrante I se observa una correlación positiva cercana entre el porcentaje de limos, la materia orgánica en sustratos, la intensidad de colonización micorrízica (%M) y la abundancia de arbuscúlos (%A) en el sistema radical. De acuerdo con González-Chávez *et al.* (2008) y otros autores, la presencia de materia orgánica favorece el desarrollo de la micorriza arbuscular.

En el cuadrante II el pH tiene mayor relación con la capacidad de intercambio catiónico y algunos nutrientes acumulados en tejidos vegetales como el Mn en tallos/hojas y raíces. Asimismo, las variables del cuadrante II con respecto a las del I no tienen relación alguna; sin embargo, con las del cuadrante IV se relacionan de manera negativa; por ejemplo, el pH con el contenido de Fe, Al, Mn, Zn en sustratos y el porcentaje de arcillas.

Las pocas variables localizadas en el cuadrante III parecen tener una relación poco significativa entre ellas debido a que están muy dispersas dentro del mismo; sin embargo, hay una relación negativa con algunas variables del cuadrante I, por ejemplo, entre el porcentaje de arenas y el contenido de K^+ y Na^+ en los sustratos.

Las observaciones anteriores permiten apreciar cómo algunos factores están interactuando entre ellos ya sea en forma positiva o negativa, o las variables que pueden estar favoreciendo el establecimiento de la vegetación y el desarrollo de la micorriza arbuscular. Con este análisis también se genera un panorama más preciso de lo que está ocurriendo en cada uno de los tres sitios que están bajo la influencia de la mina de manganeso.

Figura 19



Análisis de componentes principales por variables

Se llevó a cabo también un análisis de componentes principales considerando los resultados de las distintas variables (físicas, químicas, biológicas) de cada una de las muestras de sustrato y plantas por sitio. En la figura 20 se observa que las muestras se agruparon según su sitio de procedencia, lo que permite confirmar que las propiedades de cada sitio están determinadas por el uso de suelo. Cabe destacar que los resultados apreciados en la figura 20 guardan una relación con

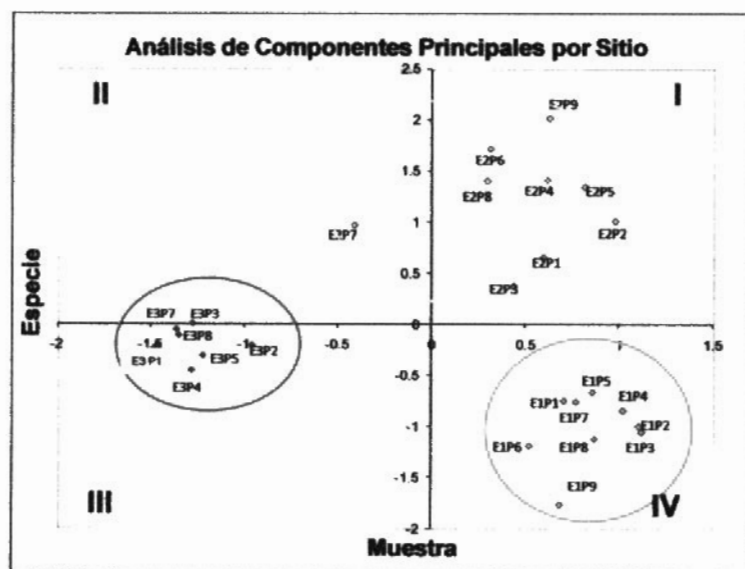
respecto a los de la figura 19, es decir, las variables del cuadrante IV (Fig. 20) indican cómo es la dispersión del sitio 1 (Fig. 20), las del cuadrante I (Fig. 19) indican la del sitio 2 (Fig. 20) y las del cuadrante III (Fig. 19) son las variables que más influencia tuvieron en el sitio 3 (Fig. 20).

Todas las muestras del sitio 1 se encuentran agrupadas en el cuadrante IV, con una dispersión interna intermedia entre la de los sitios 2 y 3. Debido a que son parcelas de cultivo (sitio 1), sus características pueden variar en cierta medida de acuerdo con el contenido de algunos nutrientes en sustrato (Zn, Al, Mn, Fe), la acumulación de otros elementos en tallos y hojas (Al, Na⁺, P, Mg²⁺) o en raíces (Fe, Na⁺), así como el contenido de arcillas y el nivel de humedad en sustratos.

Las diferentes muestras del sitio 2 tuvieron una dispersión más elevada entre sí debido a una mayor amplitud entre las medias de las variables (Fig. 20). Ello podría atribuirse a que a pesar de tener el mismo uso de suelo, la cercanía con la zona de extracción de Mn influye sobre algunos factores como el espacio poroso y el contenido de Na⁺, Si y K⁺ en sustratos; el Ca²⁺, K⁺ y P en raíces. En cuanto al contenido de limos y de materia orgánica, así como a la intensidad de la colonización micorrízica en el sistema radical, hubo una variación menor entre las muestras como se observó en la figura 19.

Las muestras del sitio 3 estuvieron muy cercanas entre ellas y también con respecto a la mina. La agrupación confirma que las muestras son muy similares entre sí en lo que a sus diferentes variables se refiere, ya que se trata de desechos mineros activos en constante depositación. De acuerdo con la figura 19, las características que podrían determinar su agrupación son el alto contenido de arenas y la densidad aparente en los sustratos, la captación de Fe y Mn en tallos y hojas, y la acumulación de Mn en raíces.

Figura 20



Análisis de componentes principales por muestra.

10. CONCLUSIONES

- a) Las características físicas, químicas y biológicas de los sustratos variaron entre los tres sitios, en función del uso de suelo y de la influencia de la mina de extracción de Mn.
- b) Los niveles de Mn disponibles en los sustratos de los tres sitios son considerados como altos, comparables a otros sitios contaminados con el elemento.
- c) Los sustratos del sitio 1, enfocado en la producción agrícola, poseen niveles elevados de Mn.
- d) El sitio 2 a pesar de mostrar una mayor amplitud entre las variables de los sustratos, muestra una mayor capacidad para el sustento vegetal, pese a los niveles altos de Mn. Factores como la presencia de materia orgánica y los niveles de pH, pudieran contribuir a contrarrestar la toxicidad del Mn en las plantas.
- e) Las características físicas y químicas de los sustratos del sitio 3 son muy incipientes para el mantenimiento de la vegetación. La constante depositación de materiales de desecho los hace inconsistentes, es decir, de características inestables.
- f) Ninguna de las tres especies vegetales acumuló Mn en sus tejidos en niveles tóxicos. La mayor proporción de Mn fue retenida en raíces. *P. hydropiperoides* del sitio 3, fue la especie que mayores niveles de Mn acumuló y no mostró colonización micorrízica. En cambio *A. psilostachya* y

Z. mays, de los sitios 2 y 1 respectivamente, presentaron interacción con los HMA y fueron las especies que menores niveles de Mn absorbieron.

- g) El número más alto de esporas de hongos micorrízico arbusculares fue observado en el sitio 2, seguido por el sitio 1. En cuanto al sitio 3, el número de esporas fue muy bajo.

11. LITERATURA CITADA

- Acevedo, O., Flores, D., 2000. Genesis of white fragipans of volcanic origin. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 2:152-162.
- Alexander, M., 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT Editores, México, D.F.
- Alloway, B., 1995. Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professional, Londres, Glasgow.
- Alves da Silva, G., Farto, B., Saggin, O., Costa, M., 2005. Arbuscular fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. *Mycorrhiza* 15:47-53.
- Arines, J., Vilarinho, A., Sainz, M., 1989. Effect of different inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on manganese content and concentration in red clover (*Trifolium pretense* L.) plants. *New Phytologist* 112:215-219.
- Bidwell, R., 1979. Fisiología vegetal. AGT Editor, México, D.F.
- Bingham, F., 1973. Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside.
- Bohn, H., Mc Neal, B., O'Connor G., 1993. Química de suelos. Limusa, México, D.F.
- Bonfante, P., Perotto, S., 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist* 130:3-21.
- Brady, N., Weil, R., 1999. The nature and properties of soils. Prentice Hall, New Jersey.

- Bray, R., Kurtz, L., 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphours in soils. *Soil Science* 59:39-45.
- Brimecombe, M., Leij, F., Lynch, J., 2001. The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. En: Pinton, R., Varanin, Z., Nannipictry, P., (Eds.) *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil plant interface*. Marcel Dekker Inc., Nueva York, pp. 472.
- Buol, S., Hole, F., McCracken, R., 2008. *Génesis y clasificación de suelos*. Trillas, México, D.F.
- Cañizares-Villanueva, R., 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 43:131-143.
- Carrillo, G., González-Chávez, M., 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution* 144:84-92.
- Castellanos, J., Valle, B., Aguilar, J., Aguilar-Santelises, A., 2000. *Manual de interpretación de suelos y aguas*. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola, México, D.F.
- Castillo, V., 1999. Sistema de explotación por corte y relleno con tepetate del bloque 830-950 en la mina Acuatitla de la unidad Molango, de la Compañía Minera Autlán. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca.
- Cepeda, J., 2009. *Química de suelos*. Trillas, México, D.F.

- Chapman, H., 1973. Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside.
- Clark, R., Zeto, S., 2002. Arbuscular mycorrhizae: mineral and water acquisition. En: Sharma, A., Johri (Eds.) Arbuscular mycorrhizae interactions in plant, rhizosphere and soils. Science Publishers Inc. Enfield, pp 311.
- Clements, S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212:475-486.
- College of Tropical Agriculture and Human Resources. 1998. Managing manganese in former sugarcane soils on Oahu. Cooperative Extension Service. University of Hawaii, Manoa.
- Coll-Hurtado, A., Sánchez-Salazar, M., Morales, J., 2002. La minería en México: geografía, historia, economía y medioambiente. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geografía. Temas Selectos de Geografía, México, D.F.
- Daniel, W., 2006. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa-Wiley, México, D.F.
- da Silva, J., Williams, R., 2001. The biological chemistry of the elements: the inorganic chemistry of life. Oxford University Press, Oxford.
- del Val, C., Barea, J., Azcón-Aguilar, C., 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Applied and Environmental Microbiology* 65:718-723.

- Dickson, S., Smith, F., Smith, SE., 2007. Structural differences in arbuscular mycorrhizal symbioses: more than 100 years after Gallaud, where next?. *Mycorrhiza* 17:375-393.
- Duhoux, E., Nicole, M., 2004. *Biologie végétale: associations et interactions chez les plantes*. IRD Editions, Paris.
- Embleton, T., 1973. Magnesium. En. Chapman, HD., (Ed.). *Diagnostic criteria for plants and soils*. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp 793.
- Enciclopedia de los Municipios de México, 2002 (www.e-local.gob.mx).
- Eslava, G., 1995. Determinación de algunos metales en jales de la mina de Real del Monte, Hgo., por medio de análisis por activación neutrónica. Tesis de Maestría. UNAM, México D.F.
- Fassbender, H., Bornemisza, E., 1994. *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. Servicio Editorial IICA, San José.
- Flores-Tavizón, E., Alarcón-Herrera, M., González-Elizondo, S., Olguín, E., 2003. Arsenic tolerating plants from mine sites and host springs in the semiarid region of Chihuahua, México. *Acta Biotechnologica* 23:113-119.
- Fomina, M., Alexander, I., Colpaert, J., Gadd, G., 2005. Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhiza fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 851-866.
- Foth H. 1990. *Fundamentals of soil science*. Willey Editors, Nueva York.

- Gardea-Torresdey, J., Peralta-Videa, J., de la Rosa, G., Parsons, JG., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews* 249:1797-1810.
- Gerdeman, J., Nicholson, T., 1963. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soils by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46:235-294.
- Gildon, A., Tinker, P., 1981. A heavy metal-tolerant strain of mycorrhizal fungus. *Transactions of the British Mycological Society* 77:648-649.
- Gildon, A., Tinker, P., 1983. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants: the effect of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist* 95:247-261.
- Ginés, N., 2003. Química agrícola. Mundi-Prensa, Madrid.
- González-Chávez, C., Carrillo-González, R., Gutierrez-Castorena, M., 2008. Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: the role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Hazardous Materials* 161:1288-1298.
- González-Chávez, C., Gutiérrez-Castorena, M., Wright, S., 2004. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana* 22:507-514.
- González-Chávez, C., Haen, J., Vangronsveld, J., Dodd, J., 2002. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus*

spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil* 240:287-297.

- Göre, V., Paszkowski., 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115-1122.
- Graham, R., Hannam, R., Uren, N., 1988. *Manganese in soils and plants*, Springer, Sydney.
- Guisande, G., Barreiro, F., Moneiro, E., Riviero, A., Vergara, C., Vaamonde, L., 2006. *Tratamiento de los datos*. Días de Santos, Madrid.
- Hause, B., Fester, T., 2005. Molecular and cell biology in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta* 221:184-196.
- Hernández, S., 2008. *Micorriza arbuscular y acumulación de manganeso en plantas establecidas en un depósito minero del distrito de Molango, Estado de Hidalgo*. Informe Final de Servicio Social. UAM-Xochimilco, México D.F.
- Hernández, A., Salinas, R., Patiño, C., Rivera, L., Yta, M., Pérez, L., 2006. Caracterización de los jales del distrito Pachuca-Real del Monte, Hidalgo, y su posible uso como material industrial. *Boletín de Mineralogía* 17:129-134.
- Herrera, C., González, M., 1996. Mining, metalurgy and the environment in México during the twentieth century. *International Council on Metals and the Environment*, Ottawa.
- INEGI, 2010. (www.inegi.gob.mx)
- Ingham, E., Wilson, M., 1999. The mycorrhizal colonization of six wetland plant species at sites differing in land use history. *Mycorriza* 9:233-235.

- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Peroto, S., Turnau, K., Barea, J., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils* 37:1-16.
- Juárez-Vázquez, L., 2006. La micorriza arbuscular en suelos contaminados por metales pesados en México. Informe Final de Servicio Social. UAM-Xochimilco, México D.F.
- Kabata, A., Pendias, H., 2000. Trace elements in soils and plants. CCR Press, Boca Ratón.
- Kapustka, L., Bermudez, S., 2000. Chemical and biological analysis of hazardous waste disposal site. Environmental Science, University of Oklahoma, Oklahoma.
- Kelly, C., Morton, J., Cumming, J., 2005. Variation in aluminium resistance among arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 15:193-201.
- Khabaz-Saberi, H., Rengel, Z., Wilson, R., Setter, T., 2010. Variation of tolerance to manganese toxicity in Australian hexaploid wheat. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173:103-112.
- Khan, A., Chaudhry, T., Hayes, W., Khoo, C., Hill, L., Fernandez, R., Gallardo, P., 1998. Physical, chemical and biological characterisation of a steelworks waste site at Port Kembla, NSW, Australia. *Water, Air and Soil Pollution* 104:389-402.
- Labanauskas, Ch., 1973. Manganese. En. Chapman, H.D. (Ed.) Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition,

University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp 793.

- Lee, K., Cunningham, B., Paulsen, G., Liang, G., Moore, R., 1976. Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings. *Physiologia Plantarum* 36:4-6.
- Leyval, C., Tuma, K., Haselwandter, K., 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7:139-153.
- Li, Q., Li-Song, Ch., Huan-Xin, J., Tang, N., Ling-Tong, Y., Zheng-He, L., Yan, L., Gang-Hua, Y. 2010. Effects of manganese-excess on CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in *Citrus grandis* seedlings. *Plant Biology* 10:42.
- Licon, A., 2001. Programa de suelos: sección uso y manejo de agua, resultados de investigación agrícola regional. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.
- Lindsay, W., Norvell, W., 1978. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of American Journal* 42:421-428.
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R., Ma, B., Smith, D., 2000. Acquisition of Cu, Zn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soils at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9:331-336.

- López, G., 1988. El herbario. Aurora González Calderón, Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo.
- Loué, A., 1988. Los microelementos en la agricultura. Mundi Prensa, Madrid.
- Malcová, R., Rydlová, J., Vosátka, 2003. Metal-free cultivation of *Glomus* sp. BEG 140 isolated from Mn-contaminated soil reduces tolerance to Mn. *Mycorrhiza* 13:151-157.
- Mallin, M., Ensign, S., Wheeler, T., Mayes, D., 2002. Pollutant removal efficacy of three wet detention ponds. *Journal of Environmental Quality* 31:654-660.
- Manahan, E., 2007. Introducción a la química ambiental. Reverté, México, D.F.
- Medel, A., Ramos, S., Avelar, F., Godínez, L., Rodríguez, F., 2008. Caracterización de jales mineros y evaluación de su peligrosidad con base en su potencial de lixiviación. *Conciencia Tecnológica* 35:32-35.
- Mejía, J., Carrizales, L., Rodríguez, V., Jiménez-Capdeville, M., Díaz-Barriga, F., 1999. Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas minera. *Salud Pública de México* 41 (Suplemento 2): S132-S140.
- Monroy, M., Díaz-Barriga, F., Razo, I., Carrizales, L., 2002. Evaluación de la contaminación por arsénico y metales pesados (Pb, Cu, Zn) y análisis de riesgo en salud de Villa de la Paz–Matehuala, S.L.P. Instituto de Metalurgia de la UASLP, San Luis Potosí.

- Mukerji, K., Chamola, B., Singh, J., 2000. Mycorrhizal biology. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Londres.
- Nogueira, M., Nehls, U., Hamp, R., Poralla, K., Cardoso, E., 2007. Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. *Plant and Soil* 298:273-284.
- Nogueira, M., Nogueira, E., 2003. Mycorrhizal effectiveness and manganese toxicity in soybean as affected by soil type and endophyte. *Scientia Agricola* 2:329-335.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Secretaría de Medioambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial, México, D.F.
- Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMARNAT-2003, Que establece el procedimiento para caracterizar los jales, así como especificaciones y criterios para la caracterización y preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y postoperación de presas de jales. Secretaría de Medioambiente y Recursos Naturales, Diario Oficial, México, D.F.
- Ortega, Z., 2005. Asimilación del manganeso en especies de interés económico de la comunidad de Nonoalco, estado de Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca.
- Pagano, M., Persiano, A., Cabello, M., Scotti, M., 2010. Elements sequestered by arbuscular mycorrhizal spores in riverine soils: a preliminary assessment. *Journal of Biophysics and Structural Biology* 2:016-021.

- Parker, F., 1973. Aluminum. En: Chapman, HD., (Ed.). Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp 793.
- Pawlowska, T., Charvat, I., 2004. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 70:6643-6649.
- Pawlowska, T., Taylor, J., 2004. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 427:733-737.
- Perrier, N., Amir, H., Colin, F., 2006. Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal-rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza* 16:449-458.
- Phillips, J., Hayman, D., 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Pinton, R., Varanin, Z., Nannipieri, P., 2001. The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants, and microorganisms. En: Pito, R., Varanin, Z., Nannipictry, P. (Eds.) *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil plant interface*. Marcel Dekker Inc, Nueva York, pp 424.
- Piper, C., 1994. *Soil and plant analysis*. Interscience Publishers, Nueva York.

- Pishchik, V., Vorobyev, N., Chernyaeva, I., Timofeeva, S., Kozhemyakov, A., Alexeev, Y., Lukin, S., 2002. Experimental and mathematical simulation of plant growth promoting rhizobacteria and plant interaction under cadmium stress. *Plant and Soil* 243:173-186.
- Pitman, J., 2005. Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis. *New Phytologist* 167:733-742.
- Plank, C., 1992. Plant analysis reference, procedures of the southern region of the United States. Series Bulletin 368. University of Georgia, Georgia.
- Pratt, P., 1973. Manganese. En: Chapman, H.D. (Ed.) Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp. 264-285.
- Pritchett, W., 1986. Suelos forestales: propiedades, conservación y mejoramiento. Noriega, Nueva York.
- Ramos-Arroyo, Y., Siebe-Grabach, C., 2006. Estrategias para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio caso en el distrito de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 1:54-74.
- Razo, I., Carrizales, L., Castro, J., Díaz-Barriga, F., Monroy, M., 2004. Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate area in México. *Water, Air, and Soil Pollution* 152:129-152.

- Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Residuos Sólidos., 1988. Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, México, D.F.
- Rillig, M., Mummey, D., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171:41-53.
- Rivera-Becerril, F., Calantzis, C., Turnau, K., Caussanel, J-P., Belimov, A., Gianinazzi, S., Strasser, R., Gianinazzi-Pearson, V., 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany* 53:1177-1185.
- Rivera-Becerril, F., van Tuinen, D., Martin-Laurent, F., Metwally, A., Dietz, K-J., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., 2005. Molecular changes in *Pisum sativum* L. roots during arbuscular mycorrhiza buffering of cadmium stress. *Mycorrhiza* 16:51-60.
- Rodríguez-Agudelo, Y., Riojas-Rodríguez, H., Ríos, C., Rosas, I., Sabido, P., Miranda, J., Siebe, Ch., Texcalac, J., Santo-Burgoa, C., 2006. Motor alterations associated exposure to manganese in the environment in Mexico. *Science of the Total Environment* 368:542-556.
- Ross, S., Kaye, K., 1994. The meaning of metal toxicity in soil-plant system. En: Ross, S.M., (Ed.) *Toxic metals in soil-plant systems*. University of Bristol, Department of Geography. John Wiley & Sons, Londres, pp 484.
- Ruiz, A., Morillo, L., 2006. *Epidemiología clínica investigación clínica aplicada*. Médica Panamericana, México, D.F.

- Rzedowski, J., Calderón, G., 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Michoacán-México.
- Sánchez, C., Sánchez, M., 1992. Los mineros del manganeso. Colección Lo Nuestro, Pachuca-México.
- Sanità di Toppi, L., Gabbrielli, R., 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41:105-130.
- SAPRIN., 2005. Ajuste estructural informe SAPRI: una investigación participativa realizada por la sociedad civil y el banco mundial. Ed. Intermón Oxfam, Madrid.
- Schroeder, M., Janos, D., 2005. Plant growth, phosphorous nutrition, and root morphological responses to arbuscular mycorrhizas, phosphorous fertilization, and intraspecific density. *Mycorrhiza* 15:203-216.
- Smith, S., Read, D., 1997. Mycorrhizal symbiosis. Elsevier, Nueva York.
- Stanley, E., 2007. Introducción a la química ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México, Reverté, México, D.F.
- Thompson, L., Troeh, F., 2002. Suelos y su fertilidad. Reverté, Madrid.
- Trappe, J., 1987. Synoptic key to the genera and species of Zygomyceteous mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72:1102-1108.
- Trouvelot, A., Kough, J., Gianinazzi-Pearson, V., 1986. Measure du taux de mycorhisation VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. En: Gianinazzi-Pearson, V.,

Gianinazzi, S., (Eds.) Mycorrhizae: Physiology and genetics. INRA Press, Paris, pp. 217-221.

- Turnau, K., Ryszka, P., Gianinazzi-Pearson, V., Van Tuinen, D., 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza* 10:169-174.
- Ulrich, A., Ohki, K., 1973. En: Chapman, HD., (Ed.) Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp 793.
- USDA, 1999, Soil taxonomy, Agricultural Handbook 436, Washington.
- van der Heijden, M., Klironomos, J., Ursic, M., Moutoglou, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72.
- Vogel-Mikus, K., Drobne, D., Revgar, M., 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress *Thaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution* 133:233-242.
- Volke, T., Velazco, J., De la Rosa, D., 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto de Ecología. México D.F.

- Wagner, G., 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51:173-212.
- Wallihan, T., 1973. Hierrum. En: Chapman, H.D., (Ed.) Diagnostic criteria for plants and soils. Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station, Riverside, pp 793.
- Walkley, A., Black, I., 1947. An examination on the degthareff method for determining soil organic and a proposed modification of chromic acid titration method. *Soil Sience* 37:29-38.
- Wild, A., Rusell, E., 2000. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Mundi Prensa Libros, Madrid.
- Zenk, H., 1996. Heavy metal detoxification in higher plants. A review. *Gene* 179:21-30.

- **Referencias web**

- www.conabio.gob.mx (consultada en 1/02/2010)
- www.dijon.inra.fr/bbceipm/Mychintec/ (consultada en 1/08/2008)
- www.e-local.gob.mx (consultada en 15/07/2010)
- www.edafologia.ugr.es (consultada en 30/07/2010)
- www.diputados.gob.mx (consultada en 30/04/2010)
- www.inegi.gob.mx (consultada en 06/05/2010)
- www.usda.gov (consultada en 01/07/2010)