

EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA DE SEMILLAS DE FLIJOL Y MAIZ A Cd, Pb, Cr Y Ni.

Clave del proyecto: CIN2012A10062

Área de conocimiento: Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud.

Disciplina: Química

Tipo de Investigación: Experimental.

Autores:

Alejandro Maldonado Mendoza

Paulina Margarita Vázquez Chávez

Carla Lorena Rodríguez Hernández

Asesor

M en C. Marisol Resendiz Vega

Ing. Mario Herrera Telles

Centro Educativo Cruz Azul

Bachillerato Cruz Azul campus Hidalgo

Ciudad Cooperativa Cruz Azul

Febrero de 2013



RESUMEN

En el valle del mezquital desde hace más de 100 años se ha irrigado con aguas residuales y se ha tenido aparentemente un impacto positivo debido a que aumentó la capa fértil en el suelo y esto redundó en una mejor producción agrícola. El problema es que durante estos años se han venido bioacumulando metales como el plomo, cromo, níquel y cadmio en los diferentes productos y en el suelo. Cabe la posibilidad de que se llegue a saturar el suelo de éstos contaminantes y que alcancen concentraciones en las que resulten tóxicos para las semillas. En la presente investigación observamos una mayor tolerancia al cadmio del frijol que del maíz; ya que el frijol germinó en un 90% hasta concentraciones de 200mg/l. A concentraciones de 400mg/l la germinación disminuyó hasta 20%. Con el plomo (Pb), Cromo (Cr) y Níquel (Ni) el % de germinación fue 0% desde concentraciones de 25mg/l. En el análisis del germinado en el caso del cadmio se encontró cadmio en todas las partes de la semilla: tallo, raíz, hoja y semilla.

Pudimos demostrar de ésta manera que la fitoremediación sería una alternativa de remediación del suelo para eliminar cadmio, solo se recomienda no utilizar plantas comestibles.

Palabras clave: Cadmio, germinación.

SUMMARY

In the valley of mesquite for over 100 years has been irrigated with wastewater and apparently has had a positive impact because it increased the blanket on the floor and this resulted in improved agricultural production. The problem is that over the years have been bioaccumulating metals such as lead, chromium, nickel and cadmium in different products and soil. It is possible to saturate the soil reaches thereof and contaminants to reach concentrations that are toxic to the seeds. In the present study we observed a greater tolerance to cadmium corn bean, since the beans germinated by 90% to concentrations of 200mg / l. At concentrations of 400 mg / l decreased to 20% germination. Lead (Pb), chromium (Cr) and Níquel (Ni) the% germination was 0% from concentrations of 25mg / l. In the



analysis of the germ in the case of cadmium found in all parts of the seed: stem, root, leaf and seed.

We were able to demonstrate in this way that phytoremediation would be an alternative soil remediation to remove cadmium, only recommended not to use edible plants.

Keywords: Cadmium, germination.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, es una zona importante de gran actividad agrícola y pecuaria, cuya principal fuente de productividad se basa en el empleo de aguas residuales provenientes de la zona metropolitana de la ciudad de México (ZMCM), para la irrigación de 130,000 ha de terrenos agrícolas, en donde se producen cultivos de interés económico y nutricional para todo el país.

El uso de esta agua, valorada significativamente por los agricultores del estado, ha sido empleada desde hace más de 100 años, misma que ha dado una mayor fertilidad y capacidad productiva a estos suelos agrícolas que inicialmente eran de tipo árido.

Las aguas residuales contienen una gran cantidad de nutrientes y elementos químicos y biológicos que por una parte, han favorecido al suelo y aprovechado los diferentes cultivos de alfalfa, maíz, trigo, cebada, frijol, etc.; sin embargo no solo han habido beneficios importantes para el estrato en donde se desarrollan las plantas, también se han venido registrando y evaluando la contaminación por acumulación y lixiviación de elementos tóxicos como los metales pesados, hacia diferentes estratos del suelo y los mantos freáticos que paralelamente, han aumentado por el uso excesivo de aguas residuales.



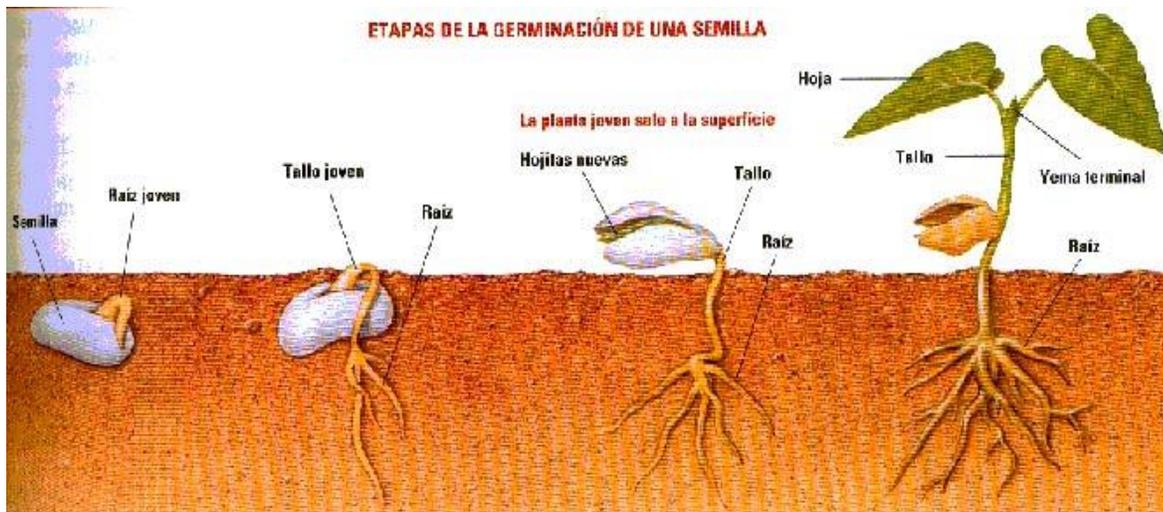
La posible contaminación ambiental, por el uso inadecuado de las aguas residuales, tanto la acumulación y lixiviación de metales pesados en el suelo, como su absorción y bioacumulación en los diferentes cultivos regados con esta agua; son responsables de rangos importantes de concentración de metales pesados en el suelo de **Cr** (48 - 150 mg kg⁻¹), **Cu**: (21 - 96 mg kg⁻¹), **Ni** (26 - 57 mg kg⁻¹), **Pb** (8 - 86 mg kg⁻¹) y **Zn** (66 - 391 mg kg⁻¹), los cuales están actuando en el suelo y pueden afectar al % de germinación de las semillas cultivadas. Las semillas que mayormente se cultivan en la región son: frijol y maíz; por lo que es tema de este proyecto, el determinar la tolerancia de estas semillas a diferentes concentraciones de los metales, ya que si afectan al % de germinación, afectarán indirectamente a la economía del estado.

Es importante determinar el nivel de riesgo ambiental de los metales pesados sobre diversos representantes del ecosistema terrestre utilizando bioensayos ecotoxicológicos, las plantas terrestres presentan especies representativas de los agroecosistemas hortícolas (Wang, 1991, Iannacone *et al.*, 2000). Los ensayos de fitotoxicidad con semillas son simples, versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelo. Algunas especies de plantas tienen ventajas sobre otros organismos biológicos, como por ejemplo: 1) poder almacenarse en forma de semilla por un año o más; 2) costo de mantenimiento mínimo; 3) las muestras no requieren aireación; 4) muestras con altas turbiedades no requieren filtración adicional; y 5) las pruebas se pueden llevar a cabo sin ajuste de pH. Por lo que el objetivo del presente estudio es determinar la tolerancia a diferentes concentraciones de metales pesados que se han reportado como bioacumulados en los suelos agrícolas aledaños a la presa Endhó en donde los suelos han sido irrigados con aguas negras durante más de 100 años. Para ellos se utilizará maíz, frijol, y soluciones de 0, 25, 50, 100, 200 y 400 mg/l de Cd(NO₂)₃ y Pb(NO₂)₃. 0, 12.5, 25, 50, 100 y 200, de Cr(NO₂)₃ y 0, 25, 50, 100, 200, 400 y 600 de Ni(NO₂)₃, estas mediciones contribuirán, a tomar medidas para evaluar la perturbación de los ecosistemas y promover alternativas de biorremediación.



1.2 MARCO TEÓRICO

1.2.1 La germinación es el proceso mediante el cual una semilla se desarrolla hasta convertirse en una nueva planta. Este proceso se lleva a cabo cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe. Para lograr esto, toda nueva planta requiere de elementos básicos para su desarrollo: temperatura, agua, oxígeno y sales minerales. El ejemplo más común de germinación, es el brote de un semillero a partir de una semilla de una planta floral o angiosperma. Sin embargo, el crecimiento de una hifa a partir de una espora micótica se considera también germinación. En un sentido más general, la germinación puede implicar todo lo que se expande en un ser más grande a partir de una existencia pequeña o germen. La germinación es un mecanismo de la reproducción sexual de las plantas.



Ciencias de la Naturaleza. 2º de ESO. Vicens Vives

1.2.2 Se define como **biorremediación** a cualquier proceso que utilice microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para retornar un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural. La biorremediación puede ser empleada para atacar contaminantes específicos del suelo, por ejemplo en la degradación bacteriana de compuestos organoclorados o de hidrocarburos. Un ejemplo de un tratamiento más generalizado es el de la



limpieza de derrames de petróleo por medio de la adición de fertilizantes con nitratos o sulfatos para estimular la reproducción de bacterias nativas o exógenas (introducidas) y de esta forma facilitar la descomposición del petróleo crudo. Los procesos naturales de biorremediación y fitorremediación (remediación por plantas) se han usado desde hace siglos; tal es el caso de la desalinización de terrenos agrícolas por la acción de plantas capaces de extraer las sales. La biorremediación usando microorganismos fue inventada por el científico norteamericano George M. Robinson. Éste trabajó como ingeniero petrolero asistente de la compañía Santa María de California en la década de 1960 y se dedicó a experimentar con una serie de microbios en frascos contaminados de petróleo.

Se puede clasificar a la **biorremediación** como *in situ* o *ex situ* . La primera consiste en tratar el material contaminado en el lugar en que se encuentra sin trasladarlo a otra parte. Algunos ejemplos de estas tecnologías consisten en operaciones de compostaje, la ventilación biológica, la utilización de biorreactores, la filtración por raíces o la estimulación biológica.

En los procesos *ex situ* el material contaminado es trasladado a otro lugar para realizar o completar su descontaminación.

No todos los contaminantes son fáciles de biorremediar por medio de microorganismos. Por ejemplo, los metales pesados como el cadmio y el plomo y el mercurio no son absorbidos o capturados por estos organismos. La incorporación de algunos de estos metales dentro de la cadena alimentaria (bioacumulación) agrava el problema. Se puede usar la remediación por medio de plantas o fitorremediación. Es muy útil en estos casos porque es posible usar plantas transgénicas que concentren estas toxinas en sus partes aéreas (sobre la tierra), las cuales pueden ser cosechadas y eliminadas.¹ Los metales pesados obtenidos de esta cosecha pueden ser concentrados aún más por incineración para ser desechados o bien reciclados para usos industriales.

La eliminación de una gran variedad de contaminantes del medio ambiente requiere un conocimiento creciente de la relativa importancia de sus ciclos químicos y redes de regulación del



ciclo del carbono en diversos ambientes y para cada compuesto en particular. Con seguridad que esta tecnología se desarrollará aún más en el futuro.

II. OBJETIVOS

GENERAL

II. 1 Conocer la Tolerancia de las semillas a diferentes concentraciones de Pb, Cd, Cr y Ni.

ESPECÍFICOS

II. 1 Determinar la concentración de los metales pesados en las diferentes partes del germinado.

II. 2 Determinar si el maíz es más tolerante a los metales antes mencionados que el frijol.

II. 3 Determinar la necesidad y viabilidad de la biorremediación.

III. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

III. 1 PRUEBA DE GERMINACIÓN

Durante los meses de septiembre y principios de noviembre se compraron semillas de girasol, maíz, frijol y lechuga en tiendas de autoservicio. Todas las semillas se mantuvieron en condiciones de oscuridad y a temperaturas de 6°C para inhibir su germinación y mantener su fertilidad, según el criterio propuesto por Wang (1991). Se descartaron las semillas dañadas y se utilizaron las de un mismo tamaño. Para la desinfección de las semillas se realizó un pretratamiento con una solución de etanol al 70%, posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se secaron en estufa a 30°C por 20 min. De igual forma, el papel absorbente (Tissue®) previamente cortado en trozos de 3,5 cm² se esterilizó por 15 min en una estufa a 60°C.



Prueba de germinación: Se hicieron cultivos en charolas con algodón, todo esto para realizar un estudio y saber si las semillas de la marca comprada eran útiles para la realización del proyecto, esto nos ayudo a verificar el porcentaje de germinación de cada semilla.

Tabla 1. Porcentajes de germinación de las semillas adquiridas en centros comerciales.

Semilla	Maíz	Girasol	Lechuga	Frijol
Numero de semillas sembradas	50	50	100	40
Porcentaje de semillas germinadas	25%	35%	20%	26%

Debido al bajo porcentaje de germinación se procedió a obtener semillas en las forrajeras de la región que son los lugares en donde la mayoría de los agricultores obtienen sus semillas para la siembra, esperando obtener en ésta ocasión mejores

Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas adquiridas en las forrajeras locales.

Semilla	Maíz	Girasol	Lechuga	Frijol
Numero de semillas sembradas	50	50	100	40
Porcentaje de semillas germinadas	100%	90%	20%	100%





Foto 1: Muestra de la semilla de maíz.



Foto 2: Muestra de semilla de Frijol.



Foto 3: Etanol al 70% para desinfección



Foto 4: Cultivo con 50 semillas de maíz



Foto 5: Cultivo con 50 semillas de frijol.

III. 2 Exposición a los metales pesados (contaminantes)

Luego de conocer el porcentaje de germinación de las semillas antes mencionadas se pesaron los metales en diferentes concentraciones 0, 25, 50, 100, 200, 400 y 600 mg/l para continuar con la experimentación para evaluar la tolerancia de metales pesados en la germinación.

De esta manera seleccionamos las semillas de maíz y frijol. Las semillas de las dos especies de plantas se evaluarán en bioensayos sin renovación de la solución tóxica utilizando un total de cinco semillas por envase, con ocho repeticiones. En cada envase se colocarán dos trozos de papel absorbente, y se añadirá 1 mL de la solución hidropónica con cada concentración de metal pesado Cd, Pb; Ni y Cr por envase. Luego se colocarán cinco semillas en forma equidistante (cuatro en cada ángulo y otra en el centro) en cada envase y se cubrirá con dos trozos más de papel absorbente. El agua utilizada para los ensayos biológicos consistirá en una solución hidropónica con las características descritas por Iannacone *et al.* (2000). La prueba se realizará bajo condiciones de oscuridad. La duración de la prueba será de 192 h (8 días). Los indicadores para el bioensayo serán el crecimiento de la radícula (mm) en comparación con el control. Los bioensayos se realizarán a una temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$.

Tabla 3.-Tabla de resultados: % de germinación de las semillas expuestas a Cadmio

Semilla	No. De Sembradas	Sulfato de Cadmio (Cd) Concentración (mg/l)					
		0	25	50	100	200	400



Frijol	50	76%	10%	3%	1%	35%	7%
Maíz	50	84%	9%	5%	12%	0%	0%

Tabla 4.-Tabla de resultados: % de germinación de las semillas expuestas a Cromo

Semilla	No. De Sembradas	Trióxido de Cromo (Cr)					
		Concentración (mg/l)					
		0	25	50	100	200	400
Frijol	50	87%	0%	0%	0%	0%	0%
Maíz	50	75%	0%	0%	0%	0%	0%

Tabla 5.-Tabla de resultados: % de germinación de las semillas expuestas a Níquel

Semilla	No. De Sembradas	Sulfato de Níquel (Ni)					
		Concentración (mg/l)					
		0	25	50	100	200	400
Frijol	50	95%	0%	0%	0%	0%	0%
Maíz	50	85%	0%	0%	0%	0%	0%



Tabla 6.- Semillas germinadas expuestas a Cadmio

Concentración \ Semilla	0 mg/l	25 mg/l	50mg/l	100mg/l	200mg/l	400mg/l
Frijol	50	0	10	25	40	10
Maíz	50	0	30	0	5	0

		
Fotografía 6. Germinado testigo de cromo.	Fotografía 7. Germinado testigo de Níquel	Fotografía 8. Germinado testigo de cadmio

III. 3 Análisis por absorción atómica de las diferentes partes del germinado

Posteriormente se inspeccionó cada semilla para separar aquellas en las que hubo germinación y a su vez separamos las partes del germinado para analizar por separado la concentración del Cadmio (Cd) en cada parte del germinado.

Después se peso cada parte del germinado en la balanza analítica.



Cuando terminamos de pesar las partes de las semillas germinadas procedemos a digerir las mezclas en 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, se puso a calentar dentro de la campana de extracción durante 5 minutos a una temperatura de 440° centígrados pasado este tiempo se agregó peróxido de hidrógeno y se continuo calentando por otros 5 minutos.

Finalmente se aforaron las muestras con agua destilada a 100 ml y después se realizan las lecturas de los metales en el espectrofotometro de absorción atómica de la marca VARIAN modelo Spectra AA 1234989-BF.

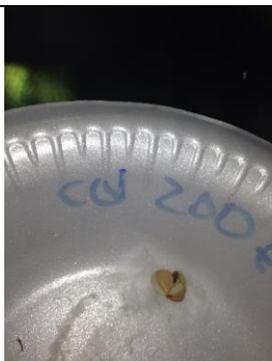
Los antes mencionados se utilizaron para determinar la concentración del cadmio en la germinación de las semillas de fríjol y maíz.

Como funciona el espectro

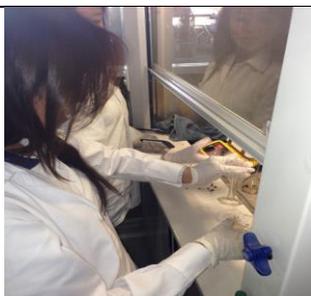
Es necesario leer un estandar de cadmio de 100 ppm(100 MG POR CADA LITRO)

El equipo hace una curva de calibración, absorbancia contra concentración y finalmente se lee la muestra y por medio de la curva de calibración se reporta la concentración de cadmio en la muestra.





Fotografía 11. Germinado de cadmio 200mg/l.



Fotografía 13. Digerido de los germinados.



Fotografía 15. Ácido sulfúrico concentrado y peróxido de hidrógeno utilizados.





Fotografía 17. Espectrofotómetro de absorción atómica marca Varian.



Muestra	Resultado mg/l
Cd 50 maíz cascara	0.0266
Cd 50 maíz raíz	0.0237
Cd 50 maíz semilla	0.0807
Maíz Cd 100 germinado	0.0357
Maíz Cd 200 semillas	1.802

Tabla 7.-Resultado del Análisis por absorción atómica de las diferentes partes del Germinado de maíz: cascara, raíz y semilla



Tabla 8.-Resultado del Análisis por absorción atómica de las diferentes partes del germinado de maíz: cascara, raíz y semilla

Muestra	Resultado mg/l
Frijol cascara 0	0.003
Frijol germinación 0	0.0103
Frijol semilla 0	0.0277
Cd 100 frijol semilla	3.7460
Cd 100 frijol cascara	2.6543
Frijol 200 germinación	3.3943
Cd 200 frijol cascara	30.2942



Cd 200 cascara	1.2623
Cd 200 frijol semilla	0.0957
Cd 400 frijol semilla	8.1937
Cd 400 frijol raíz	0.3750
Cd 400 frijol cascara	9.3823

V. CONCLUSIONES

Se observó que la semilla de frijol tolera concentración de Cadmio de 200mg/l el terreno donde es suministrado estara saturando pero a una concentración de 400mg/l el terrero tendrá afectación biológica tanto en el suelo como en la semilla, causando perdida económica de los campesinos ya que la semilla no tolera concentraciones tan pesadas de estos contaminantes.

Mediante la experimentación de este proyecto logramos identificar que el maíz presenta una tolerancia a concentraciones de Cadmio menor que la de el frijol soportando concentraciones a 50 mg/l con una germinación considerable pero cuando fue expuesta a la concentración de 100 mg/l el porcentaje disminuyo de manera notable, lo que nos dice que si algun campesino siembra sus cultivos y espone sus semillas de maíz con agua que tenga estas concentraciones tendra perdidas considerables en su cosecha.



Las semillas expuestas a concentraciones de Trióxido de Cromo y a Sulfato de níquel presentaron cero tolerancia a estos metales consideramos que son mas pasados para que se de la germinación en estas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson T.A., Guthrie E.A. y Walton B.T. (1993). Bioremediation in the rhizosphere. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2630-636.
2. Bregnard T.P.A., Hohener P., Haner A. y Zeyer J. (1996). Degradation of weathered diesel fuel by microorganism from a contaminated aquifer in aerobic and anaerobic microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 299-307.
- Bello J., López A. "Fundamentos de Ciencia Toxicológica". Díaz de Santos, 2001.
3. Moreno Grau, D. "Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana". McGraw-Hill Interamericana, 2003.
4. PROFEPA. (2003). Reporte de emergencias ambientales en México 2002. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA). México.Saval S. (1997). La biorremediación como alternativa para la limpieza de sitios contaminados con hidrocarburos. En: *Seminario Internacional sobre Restauración de Sitios Contaminados*. Instituto Nacional de Ecología- SEMARNAP, Agencia de Cooperación Internacional del Japón, y Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental. México, pp. 18.
5. Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water Air Soil Pollut.* 59:38-400.

