

## Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Química Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

"Efecto de lodos residuales en la acumulación de arsénico en frijol"

Opción de titulación. **Tesis** 

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta:

L.Q. Mayelín Rosquete Bassó

Dirigido por: Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez

Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez Presidente

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval Secretario

Dr. Miguel Angel Ramos López Vocal

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes Suplente

M. en C. Francisco Javier Martínez Ríos

Suplente

Dra. Silvia Larena Amaya Llano

Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca-

Firma

Piña

Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario Querétaro, Qro. Enero, 2019



## Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Química Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

"Efecto de lodos residuales en la acumulación de arsénico en frijol"

## Opción de titulación **Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestría en <u>Ciencia y Tecnología Ambiental</u>

### Presenta:

L.Q. Mayelín Rosquete Bassó

## Dirigido por: Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez

<u>Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez</u> Presidente	Firma
Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval Secretario	Firma
<u>Dr. Miguel Angel Ramos López</u> Vocal	Firma
M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes Suplente	Firma
M. en C. Francisco Javier Martínez Ríos Suplente	Firma
Dra. Silvia Lorena Amaya Llano Director de la Facultad	Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca-Piña Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario Querétaro, Qro. Enero, 2019

### **RESUMEN**

El uso de lodos residuales en suelos de uso agrícola, contaminados con metales y metaloides pesados, influye en la estabilización o inmovilización de estos elementos potencialmente tóxicos para el ambiente y la salud humana. En Zimapán, estado de Hidalgo se realizan prácticas agrícolas como la siembra de frijol (Phaseolus vulgaris L.), en suelos contaminados con arsénico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del uso de lodos residuales en la bioacumulación de arsénico en plantas de frijol (P. vulgaris) sobre un suelo contaminado con este metaloide. Se realizó la caracterización de lodos residuales y de dos suelos localizados a 0.10 km (suelo A) y 1.80 km (suelo B), de un jal minero. En plantas se determinaron parámetros morfofisiológicos en dos etapas del crecimiento y contenido de clorofilas (a y b) y carotenoides. El contenido de arsénico en suelos y plantas se determinó por ICP-MS. Los resultados obtenidos en la caracterización del lodo residual permiten el uso agrícola de este. Los suelos A y B son reductores intermedios, con textura franco arenoso arcillosos y pH superior a 7. Los contenidos nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica fueron bajos en ambos suelos. La concentración de arsénico varió significativamente (p 0.05) en relación a la distancia del jal siendo 9051.92 mgkg<sup>-1</sup> en el suelo A y 826.63 mgkg-1 en el suelo B. En los suelos A y B, la diferencia en longitud de la planta entre los sustratos con lodos y los controles fue 17.22 % y 55.90 %, y para el peso fresco fue 59.89 % y 79.06 %, respectivamente. El peso del grano en el tratamiento lodo-suelo B se incrementó en un 31.83 % con respecto al control. El índice de bioacumulación de As en las plantas de frijol varió según el orden raíz > parte aérea > granos. La aplicación de lodos disminuyó la entrada del arsénico en el frijol, con un efecto positivo en su crecimiento aunque aumentó la movilidad de este elemento en la planta, incrementando el índice de bioacumulación de As en granos. Estos suelos no son recomendable para el uso agrícola según la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.

(Palabras claves: arsénico, plantas de frijol, lodo residual, suelo contaminado, bioacumulación)

### **SUMMARY**

The use of residual sludge in agricultural soils contaminated with metals and heavy metalloids may influence the stabilization or immobilization of elements potentially toxic to the environment and human health. In Zimapán, state of Hidalgo, there have been agricultural practices such as sowed bean (Phaseolus vulgaris L.) in soils contaminated with arsenic. The objective of this work was evaluated the effect of the use of residual sludge in the bioaccumulation of arsenic in bean (P. vulgaris) on a soil contaminated with this metalloid. The chemistry, biological and physical characterization was made in residual sludge and in two soils close to mining residual: soil A (0.10 km) and soil B (1.80 km). Bean morpho-physiological parameters were determined in two stages of growth and the chlorophyll contents ("a" and "b") and carotenoids were determined as well. The arsenic content was determinate by ICP-MS, in soils and plants. The results obtained in the characterization of the residual sludge allow the agricultural use of this. Soils A and B are intermediate reducer, with clay sandy loamy texture and pH > 7. The nitrogen, phosphorus, potassium and organic matter contents were low in both soils. The concentration of arsenic varied significantly (p 0.05) in relation to the distance of the residual mining, being 9051.92 mgkg<sup>-1</sup> in soil A and 826.63 mgkg<sup>-1</sup> in soil B. In soils A and B, the difference in length of the plant between substrates with sludge and controls was 17.22 % and 55.90 %, and the difference in fresh weight was 59.89% and 79.06 %, respectively. The weight of the grain in the sludge-soil treatment B increased by 31.83 % with respect to the control. The bioaccumulation index of arsenic in bean plants varied according to the order: root> stem> grains. The application of residual sludge decreased the entry of arsenic in bean plants with a positive effect on its growth, but increased the mobility of this element within the plant and there by increased the bioaccumulation of arsenic in the beans. These soils aren't recommended for agricultural use according to NOM-147-SEMARNAT / SSA1-2004.

(**Keywords:** arsenic, bean plants, residual sludge, contaminated soil, bioaccumulation)

### **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por las oportunidades que me brinada, para ser cada día mejor.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo brindado durante estos dos años.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por darme la opción de superación profesional.

Al cuerpo de sinodales del presente trabajo:

- ✓ Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez
- ✓ Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
- ✓ Dr. Miguel Angel Ramos López
- ✓ M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes
- ✓ M. en C. Francisco Javier Martínez Ríos

Gracias por los importantes aportes que le dieron al documento de tesis y en especial en el trabajo de laboratorio.

A mi familia por el apoyo que siempre me ha dado en todos estos años.

A mis amigos de Cuba y de aquí de México; mis compañeros del laboratorio y mis compañeros de estudios en la Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental.

A todos, muchas gracias.

## **TABLA DE CONTENIDOS**

1.	INTRODUCCIÓN	1
	1.1. Motivación de la propuesta	2
2.	ANTECEDENTES	4
	2.1. Lodos residuales	4
	2.1.1. Clasificación de lodos residuales	5
	2.1.2. Usos de lodos residuales	7
	2.2. Suelo: Importancia y algunos usos de los suelos en México	9
	2.2.1. Contaminación de los suelos	10
	2.3. Metales y metaloides en el suelo	11
	2.3.1. Consecuencias negativas de la contaminación con metales y metal para el ambiente y la salud humana	
	2.4. Arsénico	13
	2.5. Tecnologías ambientales para uso y recuperación de suelos	14
	2.5.1. Aplicación de lodos en suelos contaminados	15
	2.6. Bioacumulación de metales pesados y metaloides en plantas	16
	2.6.1. Cultivo del frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	17
	2.6.2. Taxonomía de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	18
	2.6.3. Importancia del frijol en México	18
	2.6.4 Bioacumulación de metales pesados en plantas de frijol	20
	2.6.5 Bioindicadores de contaminación en vegetales	21
4.	OBJETIVOS	23
	4.1. Objetivo general	23
	4.2. Objetivos particulares	23
5.	METODOLOGÍA	24
	5.1 Métodos	24
	5.1.1 Caracterización de lodos residuales	24
	5.2 Muestreo de suelos	26
	5.3 Caracterización de los suelos	27
	5.4 Efecto del arsénico en semillas de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	28
	5.5 Diseño de experimento	29

	5.6 Determinación de parámetros físicos en los sustratos	. 30
	5.7 Determinación de indicadores del crecimiento en plantas de frijol	. 30
	5.7.1 Determinación de pigmentos fotosintéticos en plantas de frijol	. 31
	5.8 Digestión asistida por horno de microondas	. 31
	5.8.1 Digestión de los suelos	. 32
	5.8.2 Digestión de composta	. 32
	5.8.3 Digestión en plantas de frijol	. 32
	5.9 Determinación de arsénico en plantas de frijol y suelos	. 33
	5.10 Determinación del índice de bioacumulación de arsénico	. 34
	5.11 Análisis Estadístico	. 34
6	. Resultados y Discusión	. 35
	6.1 Análisis microbiológico del lodo residual	. 35
	6.1.1 Análisis de Coliformes fecales	. 35
	6.1.2 Análisis de <i>Salmonella</i> spp	. 36
	6.1.1 Contenido de metales en el lodo residual	. 38
	6.1.1 Contenido de humedad, materia orgánica y pH del lodo residual	. 42
	6.2 Caracterización de los suelos	. 43
	6.2.1 Caracterización física y química de los suelos	. 43
	6.2.3 Caracterización química de los suelos	. 47
	6.2.4 Comparación de los pH en suelos y sustratos a los 82 DDS	. 51
	6.3 Contenido de arsénico en suelos	. 52
	6.4 Efecto del arsénico en la germinación y emergencia del frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	. 54
	6.5 Parámetros morfofisiológicos de Phaseolus vulgaris en las Fase I y Fase I del crecimiento de las plantas.	
	6.5.1 Peso fresco de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en las Fase I y Fase del crecimiento	
	6.5.2 Peso seco de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en las Fase I y Fase I del crecimiento	
	6.2.3 Longitud de las plantas de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) en las Fase I y Fa	
	6.2.4 Longitud de la parte aérea en plantas de frijol (Phaseolus vulgaris)	. 60
	6.2.5 Longitud de la raíz en plantas de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	. 61

	6.2.6 Número de flores por tratamiento durante la floración de <i>Phaseolus</i> vulgaris	63
	6.2.7 Peso del grano de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	64
	6.3 Relación de algunos pigmentos fotosintéticos con la contaminación por As en los suelos y el uso de lodos.	
	6.4 Concentración de arsénico en parte aérea, raíz, grano de la planta de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	
	6.5 Índice de Bioacumulación de arsénico en plantas de frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).	70
7	. CONCLUSIONES	72
R	EFERENCIAS	

## **ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro 1 Clasificación de lodos residuales por uso según NOM-004-SEMARNAT	-
2002	5
Cuadro 2 Clasificación de lodos por su contenido de metales pesados	6
Cuadro 3 Clasificación de lodos residuales por contenido de agentes patógenos	У
parásitos	6
Cuadro 4 Clases de frijol y principales variedades representativas en México 1	9
Cuadro 5 Esquema de evaluación de los parámetros morfo-fisiológicos en la	S
plantas de frijol en dos de las fases de crecimiento2	9
Cuadro 6 Diseño de experimento en el crecimiento vegetativo de la planta de frijo	כ
(P. vulgaris L.)3	0
Cuadro 7 Determinación de Salmonella ssp. en el lodo seco	7
Cuadro 8 Valores de metales pesados y arsénico encontrados en el lodo residua	al
3	9
Cuadro 9 Concentración de cromo en frijol (P. vulgaris) de los tratamientos con lod	O
residual4	1
Cuadro 10 Clasificación textural de los suelos4	4
Cuadro 11 Características físicas de los suelos4	4
Cuadro 12 Características químicas de los suelos4	8
Cuadro 13 Valores de pH de los suelos a los 82 DDS5	2
Cuadro 14 Concentración de arsénico en los suelos5	3
Cuadro 15 Efecto del arsénico en la germinación de frijol (P. vulgaris) 5	5
Cuadro 16 Peso fresco de las plantas de frijol en las dos fases de desarrollo 5	6
Cuadro 17 Peso seco de las plantas de frijol en las dos fases de desarrollo 5	7
Cuadro 18 Longitud de la planta a los 10 y 92 DDS5	9
Cuadro 19 Longitud de la parte aérea a los 10, 43 y 92 DDS6	0
Cuadro 20 Longitud de la raíz a los 10 y 92 DDS6	2
Cuadro 21 Peso de la vaina llena y del grano en el frijol6	4
Cuadro 22 Clorofila a, b y carotenoides totales a los 82 DDS, Fase II del crecimient	O
de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> 6	6

Cuadro 23 Contenido de arsénico en parte aérea, raíz y granos de las planta	as de
frijol ( <i>P. vulgaris</i> ) evaluados a los 92 DDS	68
Cuadro 24 Índice de bioacumulación de arsénico en raíz, parte aérea y grar	no de
frijol ( <i>P. vulgaris</i> )	70

## **ÍNDICE DE ECUACIONES**

Ecuación 1 Cálculo de las propiedades redoximorfólogicas de los suelos	27
Ecuación 2 Elongación residual normalizada de la raíz en la etapa de emergen	cia
de la planta	28
Ecuación 3 a,b,c: Contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides totales de	las
plantas de frijol a los 82 DDS	31
Ecuación 4 Cálculo del factor de translocación de arsénico	33
Ecuación 5 Cálculo del índice de bioacumulación	34

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Detección de coliformes fecales en el lodo seco residual	35
Figura 2 Número de flores en plantas de frijol (Phaseolus vulgaris) a los	43 DDS.
	63

### 1. INTRODUCCIÓN

Algunos compuestos orgánicos se han utilizado para mejorar la calidad de un suelo, tal es el caso de la vermicomposta, la composta, los lodos activados, entre otros (Hernández-del Valle y col., 2012). Los lodos residuales resultan ser una importante fuente de material orgánico y de nutrientes en el suelo (González-Flores y col., 2011). De esta forma pueden ser valorizados, al tener en cuenta que pueden reincorporarse en procesos productivos, bajo criterios de responsabilidad compartida, manejo integral y eficiencia ambiental, tecnológica y económica (NOM-004-SEMARNAT-2002). Los mismos pueden tener una incidencia positiva en la acumulación por plantas de metales pesados y en el mejoramiento de la calidad de un suelo (Pardo y col., 2011).

Los lodos residuales se acumulan en grandes cantidades, por ello son considerados residuos de manejo especial. En México, se utilizan fundamentalmente como rellenos sanitarios (CONAGUA, 2012). También son empleados como bioestimulantes del crecimiento de las plantas y remediadores de los suelos. Los mismos pueden tener propiedades químicas que intervienen en la estabilización de los metales pesados en el suelo o en la absorción de estos por las plantas. (González-Flores y col., 2011).

Existen diferentes fitotecnologías que se basan en la capacidad de algunas especies de plantas que toleran, absorben, acumulan y degradan compuestos contaminantes (Garbisu y col., 2007). La acumulación de metales pesados en las partes comestibles de algunas plantas, viabiliza el acceso de estos a seres humanos y demás animales. También se conoce que la absorción de estos metales por las plantas se relaciona con el tipo de cultivo y los factores edafológicos y climáticos (Prieto-García y col., 2007). Las fabáceas como el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) son capaces de acumular metales pesados y metaloides en sus partes comestibles, aunque en menor proporción que otras plantas como el arroz (Jiang y col., 2015).

Muchos de los suelos de México, son dedicados a la minería y en algunos casos las compañías dedicadas a esta actividad no brindan un tratamiento

adecuado a los jales mineros. De ahí que la acumulación o translocación de partículas minerales, que contienen metales y metaloides pesados, a suelos dedicados a cultivo, constituye una problemática ambiental en el país. En los suelos de Zimapán, ubicados en el estado de Hidalgo, existe este tipo de problema ambiental. Siendo uno de los principales contaminantes de estos suelos el arsénico (As), que es uno de los metaloides con propiedades tóxicas más reconocidas. Este puede provocar lesiones en la piel y carcinomas, fundamentalmente. El mismo presenta dos especies químicas principales en los suelos, As (III) y As (V), la primera es la forma más tóxica. El predominio de una u otra depende de las condiciones aeróbicas o anaeróbicas presentes en el lugar (Rico-Rodríguez y col., 2013).

Por lo antes expuesto, en el presente trabajo se evaluó el efecto del uso de lodos residuales en la bioacumulación de arsénico en plantas de frijol sobre un suelo contaminado con As.

### 1.1. Motivación de la propuesta

Los lodos residuales en dependencia de su origen pueden ser empleados como enmiendas orgánicas de suelos, mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo y el crecimiento de las plantas (Hernández-del Valle y col., 2012). Los lodos intervienen en la estabilización de metales pesados y metaloides en el suelo. Esto va a depender del pH, de los contenidos de materia orgánica, el contenido de metales pesados, así como de otros elementos que pudiesen solubilizar o no los compuestos tóxicos (Pardo y col., 2011). Se conoce que en Zimapán, estado de Hidalgo, los suelos tiene un alto contenido de arsénico debido a su formación geológica, el cual ha quedado expuesto por la explotación minera que existe en la zona. Este elemento se concentra en los jales mineros de la zona, cerca de los cuales hay asentamientos poblacionales. Las personas que allí viven se dedican a la agricultura, de modo que se siembran las fabaceas en la zona del jal. Se tienen estudios realizados por Rico-Rodríguez y col. (2013), donde reportan que los contenidos de arsénico en el suelo superiores al límite máximo permisible, según lo que establece la NOM-147- SEMARNAT/SSA1-2004. Sin embargo, no se

conoce si el uso de lodos residuales interviene en las propiedades de este suelo y si estabiliza el arsénico en el mismo, de forma tal que se bioacumule en menor cantidad en las fabaceaes, en especial en el frijol.

### 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Lodos residuales

Los lodos pueden ser una mezcla compleja de materiales orgánicos e inorgánicos. Los mismos provienen de residuos generados en los procesos industriales, actividades comerciales y de servicios, y se consideran subproductos no deseados o productos de origen no específico (NOM-161-SEMARNAT-2011). La mayoría se obtiene de aguas residuales de origen municipal o industrial, a partir de tratamientos físicos, químicos y biológicos (Guo y col., 2013). En este proceso, los lodos ocupan el mayor volumen dentro de los residuos (Pliego-Bravo y col., 2014).

Los lodos que vienen del tratamiento de aguas residuales, a excepción de los indicados en la NOM-052-SEMARNAT-2005, pueden ser considerados Residuos de Manejo Especial (RME). Esto permite su aprovechamiento mediante el reciclado o recuperación de materiales secundarios y como energía alterna. En general, los RME son generados en los procesos productivos o producidos por grandes generadores. Estos residuos no reúnen las características para ser considerados como peligrosos ni como residuos sólidos urbanos (NOM-161-SEMANAT-2011).

Según datos reportados por la Comisión Nacional del Agua en el 2012 (CONAGUA, 2012), la generación promedio anual de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales fue de 232 mil toneladas, con un incremento anual de 4.4 %. El Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC, 2012) reporta que el 24.82 % de los lodos se llevan a lagunas de estabilización y a humedales, y el 75.18 % de los lodos restantes se envían a rellenos sanitarios.

Los rellenos sanitarios (sitios de disposición final de estos residuos) han disminuido su vida útil, debido al gran volumen que se genera de RME, en especial los lodos residuales (NOM-161-SEMARNAT-2011). También los componentes tóxicos como los metales pesados que puedan tener estos lodos, constituye uno de

los problemas ambientales de la actualidad (Francisco-Asencio y col., 2011; González-Flores y col., 2011).

En México, según establece la norma oficial mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002), los lodos que provienen del tratamiento de aguas residuales, se deben estabilizar en término de las disposiciones legales y reglamentarias de la materia. Para ello, tiene que impermeabilizarse con materiales que no permitan el paso de lixiviados y contar con drenajes o estructuras que permitan la recolección del lixiviado.

### 2.1.1. Clasificación de lodos residuales

Como se observa en el Cuadro 1, los lodos pueden ser clasificados en excelentes o buenos en relación con su uso. También pueden ser clasificados por el contenido de metales pesados (Cuadro 2) y por el contenido de agentes patógenos y parásitos que contengan (Cuadro 3) según establece la NOM-004-SEMARNAT-2002. Según esta Norma Oficial Mexicana, el residuo se considera peligroso si presenta una de las siguientes características: a) corrosividad; b) reactividad; c) explosividad; d) toxicidad ambiental; e) inflamabilidad; f) actividad biológico-infecciosa. Los parámetros biológicos que determinan la calidad de un lodo son: bacterias coliformes fecales, *Salmonella* spp., y huevos de helminto. En la determinación de estos patógenos el criterio a seguir es el de NMPg<sup>-1</sup> materia seca, debido a la extrema variabilidad de contenido sólidos de los lodos residuales.

Cuadro 1 Clasificación de lodos residuales por uso según NOM-004-SEMARNAT-2002. (Tomado de la NOM-004-SEMARNAT-2002)

Tipo de lodo	Clase	Aprovechamiento
Excelente	Α	Uso urbano con contacto público durante su aplicación
Excelente o Bueno	В	Uso urbano sin contacto público durante su aplicación
Excelente o Bueno	С	Usos forestales, Mejoramiento de suelo, Uso agrícola

Cuadro 2 Clasificación de lodos por su contenido de metales pesados. (Tomado de la NOM-004-SEMARNAT-2002)

Límites máximos permisibles de contenido de metales pesados en lodos residuales

Contaminante (Determinados en forma total)	Excelentes (mgkg <sup>-1</sup> en base seca)	Buenos (mgkg <sup>-1</sup> en base seca)
Arsénico	41	75
Cadmio	39	85
Cromo	1,200	3,000
Cobre	1,500	4,300
Plomo	300	840
Mercurio	17	57
Níquel	420	420
Zinc	2,800	7,500

Cuadro 3 Clasificación de lodos residuales por contenido de agentes patógenos y parásitos (Tomado de la NOM-004-SEMARNAT-2002)

Clase	Indicador bacteriológico de contaminación	Patógenos	Parásitos
	Coliformes fecales	Salmonella spp.	Huevos de
		(NMPg <sup>-1</sup> en base	Helmintos/g en
	(NMPg <sup>-1</sup> en base seca)	seca)	base seca
A	Menor de 1,000	Menor de 3	Menor de 1 (a)
В	Menor de 1,000	Menor de 3	Menor de 10
С	Menor de 2,000,000	Menor de 300	Menor de 35

a: huevos de helmintos viables; NMP: Número más probable

Las bacterias coliformes fecales son bacilos gramnegativos que no forman esporas, los mismos se encuentran en los intestinos y heces de humanos y otros animales. El más representativo de este grupo es el coliforme fecal *Eschierichiea coli*, el cual puede ser un indicador de la presencia de otros patógenos. Si la

densidad de coliformes fecales en un lodo es menor de 1,000 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, este es considerado de clase A. Por otro lado si esta cantidad es menor de 2\*10<sup>6</sup> NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, se considera de clase B (EPA, 2006).

### 2.1.2. Usos de lodos residuales

Los lodos residuales se caracterizan por un alto contenido de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio. Aunque también encontramos en los mismos, otros elementos potencialmente tóxicos como son algunos de los metales pesados, los cuales en altas concentraciones pueden entrar en la cadena alimentaria causando graves daños a los organismos vivos. No obstante, la aplicación en suelos de desechos orgánicos (como los lodos residuales) y el compostaje de estos, es de gran importancia y contribuyen al incremento nutricional del suelo. También este proceso tiene un menor costo que otros procesos convencionales (Vaca y col., 2011).

El empleo de estos residuos como enmienda orgánica trae consigo una mejora en la calidad del suelo y una mayor disponibilidad de nutrientes, los cuales pueden interactuar fuertemente con los minerales del suelo e incrementar la capacidad de intercambio catiónico del mismo. Por otro lado, pueden aumentar la biodisponibilidad de otros elementos, influir en el pH, en el contenido de materia orgánica, en la conductividad eléctrica y en la composición química de los compuestos presentes en el suelo (Vaca y col., 2011; Ramírez-Coutiño y col., 2013). De esta forma se mejorarían las condiciones físico - químicas y biológicas de los suelos, y se favorecería el crecimiento de la planta, además de poder reducirse la disponibilidad de los metales pesados en los suelos (Francisco-Atencio y col., 2011; Pardo y col., 2011). Sumado a estos se tiene que el uso de lodos constituye una opción integral económica (Vaca y col., 2011).

Sin embargo, existen desventajas en el uso de los lodos residuales asociadas a la incorporación al suelo de metales pesados y patógenos que proviene de estos residuos. Por ello, cada país tiene regulaciones que restringen el uso de estos productos en la agricultura. En México, los lodos deben cumplir con lo

establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002, para ser aprovechados con fines agrícolas. Sin embargo, la biodisponibilidad de los metales pesados provenientes de lodos residuales también depende de algunas de las propiedades del suelo como el pH, el potencial redox, el contenido de sesquióxidos y de materia orgánica (Singh y Agrawal, 2008). También la movilidad y especiación de cada metal, son factores que contribuyen a la absorción de estos elementos por las plantas (Alveranga y col., 2015a); además influye la proporción en la cual se aplique el lodo residual (Singh y Agrawal, 2008).

En el proceso de compostaje de lodos residuales se combinan con materiales orgánicos fácilmente degradables. Una vez mezclados se someten a condiciones controladas de humedad, pH y oxigenación, dando como resultado compuestos bioestimulantes de las plantas (Ramírez-Coutiño y col., 2013).

También pueden ser considerados como un combustible renovable, esto se debe a que tiene un gran potencial de recuperación de energía. Una de las tecnologías que se utilizan para la generación de combustible a partir de lodos residuales está basada en la descomposición de la biomasa por medio de calor, e incluye la combustión directa, la pirólisis y la gasificación, todo esto conlleva a una conversión termoquímica (Pliego-Bravo y col., 2014).

Los lodos pueden ser valorizados teniendo en cuenta que es un principio y conjunto de acciones asociadas, cuyo objetivo es recuperar el valor remanente o el poder calorífico de los materiales que componen los residuos, mediante su reincorporación en procesos productivos, bajo criterios de responsabilidad compartida, manejo integral y eficiencia ambiental, tecnológica y económica (NOM-004-SEMARNAT-2002).

Las alternativas para la aplicación de los lodos, están orientadas a recuperar el valor químico de estos materiales. Estas se dirigen a encontrar vías directas para su transformación o utilización como materia prima de segunda generación para otros procesos. Por ello se focalizan en la recuperación del contenido orgánico y la minimización de los riesgos por combustión espontánea, plagas, malos olores y lixiviados (Pliego-Bravo y col., 2014).

## 2.2. Suelo: Importancia y algunos usos de los suelos en México

El suelo es un sistema integrado de tres fases (gaseosa, líquida y sólida), relacionadas por los compuestos que lo conforman, y que se encuentran en la corteza superior de la superficie terrestre. Se forma por la interacción de diferentes factores que pueden ser elementos minerales, ya sea, cristalinos o amorfos, elementos orgánicos dentro de ellos los seres vivos, el agua y el aire. Estos cambios tienen lugar en la capa superficial de la corteza de meteorización de la roca; que le proporciona una fertilidad que varía en función del material parental, los organismos, el clima, el relieve, el tiempo (Orellana, 2007). La evolución de cada uno de los elementos que lo constituyen y sus interacciones, ocurren a velocidad y ritmos variables (Urquiza y col., 2002).

Las perturbaciones en el suelo se reflejan en los cambios en las fracciones de la materia orgánica del suelo debido al manejo agrícola, fundamentalmente (Orellana, 2007). El suelo como cuerpo natural posee profundidad, espesor y longitud, por el resultado de fuerza naturales tanto constructivas como destructivas. En el mismo se crea el hábitat que propicia el desarrollo de las plantas y demás seres vivos. La acción del hombre puede provocar cambios en este sistema, principalmente en los horizontes superiores (Urquiza y col., 2002).

Los factores que determinan la calidad de un suelo pueden ser endógenos y exógenos. Los primeros comprenden los factores naturales y los segundos, abarcan el manejo agrícola y la intensidad de manejo, el uso del suelo y la aplicación de fertilizantes o abonos. La calidad del suelo influye en las funciones básicas de éste, tales como infiltración del agua, los movimientos del soluto, su redistribución y almacenamiento en las plantas, así como el almacenamiento y reciclaje de nutrientes (Shukla y col., 2006).

Los suelos en México tienen una amplia distribución, respecto al uso, pero la producción agropecuaria y pesquera, ocupan los primeros lugares en cuanto a distribución de los suelos (SAGARPA, 2015). Se estima que un 57 % del territorio mexicano se dedique a la actividad agropecuaria, considerando las tierras que se usan en la ganadería extensiva (SAGARPA, 2013).

Otro de los usos de los suelos de México es en la minería, siendo esta una de las principales actividades económicas de mayor tradición en el país. Esta actividad comprende la explotación de metales preciosos, metales industriales, minerales metálicos y no metálicos, y metales obtenidos como subproductos (Ruíz-Huerta y Armienta-Hernández, 2012).

### 2.2.1. Contaminación de los suelos

La contaminación del ambiente se produce por la incorporación de cualquier tipo de energía, organismo o sustancia, que afecta las características de los ecosistemas, modifica sus propiedades y su capacidad para asimilarlas o degradarlas. En muchas ocasiones es consecuencia directa de las actividades antropogénicas, aunque también se puede producir de forma natural (Delgadillo-López y col., 2011). La contaminación puede ser biológica, química y física, en dependencia del tipo de residuo. Aquellos suelos donde hay una pérdida de la capacidad amortiguadora sobre uno o varios contaminantes, resultan ser fuentes de contaminación. Los mismos tienen un alto riesgo de dispersión de los contaminantes hacia aguas subterráneas, fundamentalmente (García-Carmona y col., 2017).

El derrame de hidrocarburos ocupa uno de los primeros lugares en niveles de contaminación de los suelos en el mundo. La contaminación por metales pesados es otro de los tipos de contaminación ambiental, que tiene una marcada repercusión en la salud de las plantas y el resto de los seres vivos. La mayoría de estos metales se acumulan en el suelo por la actividad minera, encontrando altos contenidos de estos elementos en sitios cercanos a las minas y en las áreas de fundiciones (Ruíz-Huerta y Armienta-Hernández, 2012). Estos sitios cercanos a las minas donde se acumulan desechos de la actividad minera se conocen como jales mineros. En estos lugares quedan partículas sólidas de los minerales secundarios provenientes de esta actividad (NOM-141-SEMARNAT-2003).

Las actividades mineras traen consigo que el suelo original se degrade de forma parcial o irreversible y en muchas ocasiones. Esta actividad genera una gran cantidad de residuos pétreos y lodos ricos en metales pesados que son depositados

en la superficie del entorno minero. Este suelo modificado posee materiales poco aptos para el desarrollo de actividades biológicas y el elevado nivel de metales que se genera, influye en una disminución del contenido de materia orgánica y de nutrientes. Además, provoca una elevada erosión, gran fluctuación de temperatura superficial, sequía y modificaciones en las condiciones de pH (Becerril y col., 2007).

### 2.3. Metales y metaloides en el suelo

Los metales y metaloides están presentes en todos los ecosistemas, en su mayoría como elementos electropositivos. La concentración de estos varía en dependencia de la geología local, aunque puede ser redistribuida por la actividad humana (EPA, 2017). Algunos de estos elementos como el mercurio (Hg), el cadmio (Cd), el arsénico (As), el cromo (Cr), el talio (Tl) y el plomo (Pb) resultan tóxicos a bajas concentraciones (Prieto-García y col., 2010). Sin embargo, otros son esenciales para el crecimiento de algunos de los seres vivos y los efectos tóxicos sobre las células se manifiestan a altas concentraciones, como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Cañizares-Villanueva, 2000). La presencia en el suelo de estos contaminantes representa una amenaza para los seres vivos, de ahí a que se desarrolle una serie de métodos para enmendar el impacto causado por estos elementos (Delgadillo-López y col., 2011).

Las actividades geológicas naturales, como erosión de cerros y volcanes, constituyen una fuente de aportaciones importante de metales pesados al suelo. También las actividades antropogénicas como la industria minera, que está catalogada como una de las actividades industriales más generadora de metales pesados. Estos compuestos se encuentran unidos a los diferentes componentes sólidos del suelo, y de acuerdo a las características físico-químicas van a mostrar diferente disponibilidad (González-Flores y col., 2011).

Los metales pesados pueden estar presentes como iones libres o disponibles, como compuestos de sales metálicas solubles o parcialmente solubles, como óxidos, carbonatos e hidróxidos. La disponibilidad de los mismos depende de

las interacciones que estos puedan establecer en el suelo (Pineda, 2004). Los metales pueden ser adsorbidos débilmente o presentar interacciones electrostáticas del tipo de van der Waals con la superficie sólida del suelo. También pueden estar asociados a óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio, y con la materia orgánica del suelo; estos metales en condiciones reductoras son muy inestables, presentando procesos de coprecipitación, adsorción, formación de complejos en superficie, intercambio iónico y penetración en la estructura cristalina (González-Flores y col., 2011).

# 2.3.1. Consecuencias negativas de la contaminación con metales y metaloides para el ambiente y la salud humana

El término bioacumulación se emplea para expresar la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente. Los metales y metaloides entran a varios compartimentos ambientales, como pueden ser el suelo, aguas superficiales y subterráneas, aire, microorganismos y organismos superiores (Komárek y col., 2013). La persistencia de estos en el medio trae consigo un aumento en el potencial de bioacumulación y biomagnificación y consecuencias negativas para la salud humana y para los ecosistemas (Hu y col., 2013).

Como consecuencia de la actividad minera se puede afectar y hasta eliminar la vegetación nativa, durante y posterior al desarrollo de esta actividad, dado por la deposición de materiales y residuos en la superficie del entorno. De modo que se estaría perdiendo la biodiversidad de especies, algunas de las cuales han tardado miles de años en desarrollar mecanismos para sobrevivir en suelos metalíferos. Algunos de estos elementos pueden manifestar persistencia, acumulación progresiva y transferencia a otros sistemas, lo cual supone una amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas (Becerril y col., 2007).

Hang y col. (2016), reportan que el plomo en la sangre puede causar retraso en el desarrollo de la inteligencia en infantes e induce a la hipertensión, neuropatía y enfermedades cardiovasculares. La exposición crónica al cadmio

pudiese causar toxicidad aguda en el hígado, en los riñones y en los huesos, así como atacar directamente el sistema inmune y el arsénico puede causar sarcomas, cáncer de piel. Otros elementos metálicos como el Cu y el Zn a pesar de ser nutrientes importantes para los seres humanos, su ingestión excesiva causa efectos adversos. Un exceso de Cu causa fuertes dolores de estómago y daño hepático y el Zn puede reducir la función inmune y los niveles de lipoproteínas de alta densidad.

### 2.4. Arsénico

El arsénico es una de las diez sustancias químicas que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera de mayor riesgo para la salud humana. En su forma inorgánica se encuentra presente en las aguas subterráneas de diferentes países entre ellos, Argentina, Bangladesh, Chile, China, La India, México y Estados Unidos de América. Siendo el límite máximo permisible en agua de 10 μgL<sup>-1</sup> (OMS, 2016). Según la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, el límite máximo permisible de As en los suelos agrícolas, residenciales o comerciales es de 22 mgkg<sup>-1</sup> y para los suelos industriales es de 260 mgkg<sup>-1</sup>.

En México, la NOM-201-SSA1-2002 plantea que el límite máximo permisible de arsénico en agua de beber es (0.025 mgL<sup>-1</sup>). Uno de los sitios de México con mayores concentraciones de arsénico en agua es el municipio de Zimapán, estado de Hidalgo. Esta zona minera, con abundantes minerales que contienen arsénico en su estructura. Este municipio tiene alrededor de 40 mil habitantes los cuales están expuestos a concentraciones de 1,200 μgL<sup>-1</sup> de arsénico en agua, cuando la norma internacional solo establece 10 μgL<sup>-1</sup> (Agencia Informativa Conacyt, 2017).

En la naturaleza lo encontramos en mayor proporción en las erupciones volcánicas o en lugares donde ocurren procesos de intemperización. Las fuentes antropogénicas incluyen el uso de plaguicidas y la preservación de la madera (Yong-He y col., 2016), además de las actividades de industrias electrónica, cerámica, vidrio, mineras y otras (Mao y col., 2016). La forma química de arsénico que

predomina en el suelo es As (V), la cual es menos dañina que la especie As (III). En la planta el As (V) puede ser absorbible e incluso llegar a competir con el fósforo (Yong-He y col., 2016).

Las principales vías de contaminación son por exposición a éste ya sea por consumo de agua contaminada, o de alimentos que lo contengan, así como por contacto con este metaloide en diferentes procesos industriales (Cohen y col., 2016; Jiang y col., 2015). Los alimentos que más contribuyen a la exposición del As inorgánico son: el arroz y subproductos derivados, otros cereales que pueden tener como base el trigo, ciertos vegetales, frutas y productos del mar (Cubadda y col., 2017).

Los efectos característicos de contaminación con arsénico se manifiestan en la aparición de lesiones cutáneas y cáncer de piel (OMS, 2016). Por otro lado, Cohen y col. (2016) hacen referencia que el arsénico trivalente reacciona con los grupos sulfhídricos del organismo y produce efectos como carcinomas, arterioesclerosis y efectos sobre la piel.

En Zimapán no se tienen registros de las causas de muerte y enfermedad en la población, pero existen muchos enfermos de diabetes, de los riñones y, sobre todo, muchos decesos por cáncer. En muchas ocasiones se tenía en cuenta que las consecuencias de la exposición de arsénico aparecían a partir de los veinte años. Sin embargo, en Zimapán se han identificado casos de niños de ocho años de edad con lesiones propias de la contaminación con arsénico (Agencia Informativa Conacyt, 2017).

### 2.5. Tecnologías ambientales para uso y recuperación de suelos

Los métodos convencionales para la remediación de los suelos muchas veces resultan ser muy costosos e implican un elevado consumo de energía. Estos conllevan a un impacto negativo, en ocasiones irreversible, sobre la integridad y funcionalidad del recurso suelo (Padmavathiamma y Li, 2007). De ahí que surjan nuevas técnicas como la fitorremediación, la cual emerge como una fitotecnología

de gran potencial para la remediación de suelos, aire, sedimentos, y aguas contaminadas. La misma se basa en la capacidad de algunas especies vegetales (y microorganismos asociados) para tolerar, absorber, acumular y degradar compuestos contaminantes (Garbisu y col., 2007).

Esta técnica aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo (Delgadillo-López y col., 2011). Uno de los objetivos de la fitorremediación es la restauración de la sanidad del suelo, que no es más que el mejoramiento potencial de las funciones ecológicas del mismo. Esto facilita el crecimiento de la planta en un ambiente con menor riesgo de contaminación (Pardo y col., 2011).

En relación con los metales, las dos fitotecnologías más prometedoras son: (i) la fitoextracción, o la utilización de plantas para extraer metales de los suelos y posteriormente acumularlos en los tejidos aéreos, y (ii) la fitoestabilización, o la utilización de plantas para reducir la disponibilidad de los contaminantes en el suelo y evitar así su dispersión (Garbisu y col., 2007). Algunos metales y metaloides, aunque no resultan esenciales para las plantas, son absorbidos, translocados y acumulados debido a que presentan un comportamiento electroquímico similar a algunos nutrientes (Ruíz-Huerta y Armienta-Hernández, 2012).

### 2.5.1. Aplicación de lodos en suelos contaminados

Las técnicas de compostaje, biopilas y uso de lodos, en las tierras agrícolas, muestran un orden de inmovilización de los contaminantes del suelo. Además, mejoran las propiedades del mismo y promueven la cobertura vegetal (García-Carmona y col., 2017). Esto se debe a la influencia de factores tales como cambios en el pH, aumento en la concentración de fosfatos y la naturaleza de la materia orgánica de la enmienda. Como resultado, se tiene que el pH es un importante factor, que influye en la disponibilidad de los elementos minerales del suelo. Además se ha observado que a pH ligeramente alcalinos disminuye la

disponibilidad de los metales. Otro de los factores que se relaciona con la distribución de los metales en el suelo, es la fuerte afinidad que estos puedan tener con los óxidos de hierro, manganeso y aluminio (Pardo y col., 2011).

Según estudios realizados por González-Flores y col. (2011), la disponibilidad de metales pesados en suelos donde se han aplicado lodos o biosólidos, varía en dependencia del metal en cuestión que se analice. Esto puede deberse a la formación de complejos solubles o pocos solubles, de algunos elementos metálicos con la materia orgánica que proviene de los lodos. Los resultados que obtienen en ese estudio muestran que elementos metálicos como el plomo y cobre, no varían o disminuyen la disponibilidad en relación con la aplicación o no de los lodos. Sin embargo, otros elementos como el zinc y el níquel se encuentran más disponibles con la aplicación de los biosólidos. Otros estudios realizados por García-Carmona y col. (2017) demuestran que la solubilidad del arsénico tiene una relación inversa con la materia orgánica. Aunque contradictoriamente esto tiene un efecto inverso en los suelos donde hay óxido de hierro, pues este compuesto compite con el As en sitios de adsorción, solubilizando de esta forma parte de este elemento.

El uso de compostaje puede recomendarse en estrategias de fitoestabilización por la gran persistencia que tienen la materia orgánica en el suelo. Aunque existen enmiendas orgánicas muchas de las cuales implican el uso de desechos que pueden aumentar la solubilidad del arsénico e incrementar las concentraciones de cinc y plomo extraíbles en EDTA (Pardo y col., 2011).

### 2.6. Bioacumulación de metales pesados y metaloides en plantas

Existen elementos como el cobre, el cobalto, el manganeso, el cinc, el hierro y el molibdeno, que resultan esenciales en cantidades trazas para la nutrición y desarrollo de las plantas. Dos de las funciones de estos metales (la mayoría considerados metales pesados), son la participación en las reacciones redox y la participación directa en la estructura de muchas enzimas. Sin embargo, las plantas

que se ven sometidas a elevadas concentraciones de estos y otros metales pesados sufren alteraciones metabólicas, reducción del crecimiento, pérdida de biomasa y acumulación de metal. En las mismas se afectan varios procesos fisiológicos y bioquímicos (Nagajyoti y col., 2010).

Las especies de plantas tolerantes a medios donde hay altas concentraciones de metales o metaloides se denominan metalofitas o pseudometalofitas, las mismas han desarrollado los mecanismos fisiológicos propicios para sobrevivir en este medio (Becerril y col., 2007). Existen diferencias marcadas entre estas especies y entre los tejidos que la conforman, de modo que algunas de estas pueden restringir el exceso de metales pesados libres en los compartimientos celulares (Soares dos Santos y col., 2011). Muchas de las plantas tolerantes a metales pesados poseen mecanismos eficientes para retirar, inmovilizar, acumular, compartimentar, tolerar y desintoxicar metales pesados que llegan al interior celular (Becerril y col., 2007; Soares dos Santos y col., 2011). Los mecanismos más eficientes son la formación de complejos metálicos en el citosol, a través compuestos orgánicos producidos por las plantas, y la compartimentación de los metales en las vacuolas (Becerril y col., 2007).

La absorción de metales pesados por las plantas es generalmente el primer paso para la entrada de estos en la cadena alimentaria. La absorción y posterior acumulación dependen en primera instancia del movimiento (movilidad de las especies) de los metales desde la solución en el suelo a la raíz de la planta (Prieto-Méndez y col., 2009). En plantas, el concepto de bioacumulación se refiere a la agregación de contaminantes; algunos de ellos son más susceptibles a ser fitodisponibles que otros. En relación a esto se conoce que hay plantas que pueden ser acumuladoras o hiperacumuladoras de metales pesados (Becerril y col., 2007).

## 2.6.1. Cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol es una Fabaceae que posee semillas comestibles, siendo una de las plantas más importante de este grupo. El frijol aporta nutricionalmente proteínas, minerales, vitaminas B6, vitamina C y ácido fólico, además de ser diurético y digestivo (SAGARPA, 2013).

Según la carta tecnológica del frijol ejotero de SAGARPA (2014), su ciclo de vida es de veinticuatro semanas. La época de siembra de esta fabaceae va desde de abril hasta junio, aunque se puede sembrar todo el año. Además, la densidad poblacional es de 13 - 20 plantas m<sup>-2</sup> y la distancia de siembra propicias es de 25 cm y el rendimiento potencial, relacionado a la producción por planta es de 100 g de semillas en una densidad de 15 plantas m<sup>-2</sup>.

### 2.6.2. Taxonomía de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol pertenece al género: *Phaseolus* y su nombre común es *Phaseolus vulgaris L.*, asignada por Linneo en 1753, a la tribu Phaseoleae, subfamilia Papilionaideae, familia Fabaceae y al orden Rosales. Todas las variedades de frijol quedan incluidas, aunque en muchos países se clasifican las variedades de este en dependencia de las características de su grano, en especial en lo relativo a su tamaño y color (Ulloa y col., 2011).

Reino: Plantae.

Subreino: Franqueahionta

División: Espermatophyta.

Subdivisión: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliatae.

Orden: Fabales.

Familia: Fabaceae.

Género: Phaseolus.

Especie: P. vulgaris. L.

## 2.6.3. Importancia del frijol en México

Se encuentra distribuido en los cinco continentes y es un componente esencial de la dieta, especialmente en Centroamérica y Sudamérica. Se conoce que

México pudo haber sido el centro de origen del frijol o al menos el centro de diversificación del mismo (Acosta-Gallegos y col., 2013; Ulloa y col., 2011). Las principales clases y variedades de frijol representativas de México, según la NMX-FF-038-1995, se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4 Clases de frijol y principales variedades representativas en México. (Tomado de NMX-FF-038-1995).

Clase	Variedades Representativas
Negros	Jamapa, Arriaga, San Luis, Querétaro, Zacatecas
Amarillos	Mayocoba, Peruano, Canario, Garbancillo, Azufrado
Bayos	Blanco, Río Grande
Rosados	Flor de mayo, Flor de Junio
Pintos	Pinto Nacional, Pinto Villa, Pinto Mexicano
Otras Clases	Alubia Grande, Alubia Chica, Berrendo, Satevo, Ojo de Cabra, Pinto Delicias, Manzano

En el 2014, México ocupó el quinto lugar en la producción de frijol a nivel mundial, aportando el 4.80 %, con 1 millón 273 mil 957 toneladas. El estado de Hidalgo ocupó el 12° Lugar Nacional en la producción de frijol, aportando el 1.91 %, con 20 mil 770 toneladas, siendo el municipio de Zimapán el lugar 32 en la producción de este grano a nivel de estado (FAOSTAT, 2014). La producción de este grano en el país aumentó en un 14 % entre 2015 y 2016, de 942 mil 578 toneladas en 2015 a un millón 76 mil toneladas en 2016, lo que representó un incremento de 134 mil 181 toneladas (SAGARPA, 2017).

En el año 2015, el 26.1 % de la producción nacional correspondió a frijol pinto, el 37.3 % a frijol negro (negro San Luis, negro Jamapa y negro Querétaro, principalmente) y el 23.9 % a frijoles claros como flor de mayo (9.3 %), flor de junio (7.8 %), bayo (3.1 %), canario (1.6 %) y otros claros (2.2 %). Además, el 11.1 % del volumen total correspondió a frijol azufrado, mayocoba y peruano (FIRA, 2016).

## 2.6.4 Bioacumulación de metales pesados en plantas de frijol

Estudios realizados por Hang y col., (2016), las especies de vegetales pueden variar la disponibilidad de metales pesados. La concentración de metales pesados en las diferentes especies de planta en orden: hortalizas de hoja > legumbres de tallo, hortalizas de raíz, hortalizas solanáceas > hortalizas de legumbres.

La fitotoxicidad de algunos elementos como el cinc (Zn), el cadmio (Cd) y el cromo (Cr) se manifiesta en la inhibición del crecimiento y desarrollo de algunas plantas como el frijol (*Phaseolus vulgaris*). En el caso del exceso de Zn, Cd y mercurio (Hg) y plomo (Pb), inducen daños oxidativos y causan alteración en la eficiencia catalítica de algunas enzimas. Otros metales pueden provocar clorosis (níquel) y necrosis (níquel y manganeso) en las plantas. El exceso de cobalto restringe la concentración de hierro y otras moléculas en las plantas (Nagajyoti y col., 2010).

El efecto fitotóxico del cromo en las plantas de frijol se refleja en la reducción de la actividad de las enzimas amilasa y proteasa, que provoca un decremento en la germinación y en el desarrollo de la plántula de frijol (Nagajyoti y col., 2010; Stambulska y col., 2018). La planta también va a manifestar poco desarrollo de raíces laterales y reducción de la biomasa en hojas. Esto viene asociado a la inhibición de procesos metabólicos como son la biosíntesis de proteínas y clorofilas. Como resultado estas plantas presentan clorosis progresiva, necrosis y decremento del contenido de proteínas (Stambulska y col., 2018).

La toxicidad del arsénico en las plantas viene dada, en lo fundamental, por la analogía que presenta el ion arseniato con el ion fosfato. Ambos iones compiten por ocupar los mismos sitios de captación de la membrana celular de la raíz (Nagajyoti y col., 2010). Jiang y col. (2015), reportan para una zona rural – industrial de China, una exposición al As de 423.5 g/persona/día en el arroz, que podía variar hasta 1.9 g/persona/día en el caso de algunos productos acuáticos y en frijoles encontraron un 16.1 g/persona/día.

## 2.6.5 Bioindicadores de contaminación en vegetales

En los vegetales existen sustancias que pueden considerarse como marcadores de la contaminación por metales pesados. Algunos de ellos son enzimas indicadoras de la peroxidasa como la catalasa, azúcares reductores, superóxido de dismutasa y la lipoperoxidación. Los mismos pueden dar una respuesta confiable una vez que la planta quede expuesta al contaminante (Ji y col., 2018). En la planta aumenta el coeficiente metabólico con el incremento de la contaminación, mientras que la actividad de las enzimas deshidrogenasa y arilsulfatasa decrece (Friedlová, 2010). Los pigmentos fotosínteticos también pueden ser considerados como un biomarcador sensible a la contaminación y al estrés ambiental, en especial la relación clorofila a/b (Sumanta y col., 2014).

### 2.6.5.1 Importancia de los pigmentos fotosintéticos

Las clorofilas y los carotenoides son pigmentos fotosintéticos que se encuentran en todas las plantas, algas y algunas bacterias. En las plantas, las clorofilas absorben la energía lumínica y la transforman en energía química para la síntesis de los compuestos orgánicos. Estos compuestos tienen en su estructura el anillo porfirínico y existen varias reportadas como: clorofilas a, b, c, d, e y bacterioclorofilas a, b, c, d y e. Las clorofilas a y b tienen una mayor importancia en las plantas, la diferencia entre ellas radica en que la clorofila "a" tiene un grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) y en la clorofila "b" este es sustituido por un grupo aldehídico (-CHO). La mayoría de las plantas deben su color verde a la clorofila, la cual desaparece al acercarse a la senescencia para dejar paso a otros pigmentos como los carotenoides. Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos los cuales producen colores que van desde el amarillo hasta el rojo intenso. Son esenciales para que las plantas realicen la fotosíntesis, ya que actúan como receptores de la luz solar y como escudo contra la fotoxidación destructiva (Baudi, 2006).

## 3. HIPÓTESIS

A partir de las propiedades químicas y microbiológicas que presenten los lodos residuales de una planta de tratamientos de agua, podrán ser utilizados como enmienda orgánica de un suelo contaminado con arsénico, en el cual se verá reducida la acumulación de este metaloide en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

### 4. OBJETIVOS

## 4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de lodos residuales en la bioacumulación de arsénico en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre un suelo contaminado con este metaloide.

## 4.2. Objetivos particulares

- Determinar las características químico biológicas de un lodo residual y el efecto de su aplicación al suelo, en el crecimiento y desarrollo del frijol.
- Determinar las características físico químicas de dos suelos contaminados con arsénico.
- Estimar el índice de bioacumulación (IB) del arsénico en la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el efecto de este metaloide sobre el crecimiento y desarrollo de la planta.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Métodos

### 5.1.1 Caracterización de lodos residuales

Los lodos residuales se obtuvieron de la planta de tratamiento aguas residuales (PTAR), perteneciente a la empresa CNH de México, S.A. de C.V. Ubicada en Avenida 5 de febrero, No. 2117, Zona Industrial Benito Juárez, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. Los mismos provienen de los residuos sanitarios generados por la empresa, y se obtuvieron a partir del tratamiento biológico, previo se le realizó un tratamiento de estabilización con hidróxido de calcio. Los lodos se caracterizaron según la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Previo a esta caracterización se les determinó el contenido de humedad, antes de ser secados al sol. Para ello se pesaron 10 g de lodo húmedo por cada muestra (3 réplicas) y se secaron en estufa a 105°C hasta peso constante. El promedio de las diferencias entre peso inicial y final de las tres muestras, expresado en porcentaje, se tomó como el contenido de humedad del lodo. También determinaron los parámetros de pH, materia orgánica y carbono orgánico, estos últimos por el método de Walkley-Black (Montes-Carmona, 2008).

### 5.1.1.1 Análisis microbiológico del lodo residual

El análisis de los coliformes fecales se llevó a cabo por la técnica de Número Más Probable (NMP). Se pesaron 10 g de muestra de lodo húmedo y se le adicionaron 90 mL de diluyente de peptona al 0.1 %, se homogenizó manualmente durante 1 minuto, a partir de esta suspensión se realizaron cuatro diluciones con tres réplicas de cada una y cada dilución fue inoculada en tubos que contenían 9 mL de caldo lactosado (CL) (BD Bioxon) con campana de Durham. Posteriormente las muestras fueron incubados a (35-37) °C en una incubadora marca Hotpack, modelo 28912, por un período de (24-48) horas. En los tubos que presentaron turbidez y gas, se tomaron 50 µL de cada dilución y se inoculó en tubos con 3 mL

de caldo verde brillante bilis al 2 % (BD Bioxon). Estas muestras fueron nuevamente incubadas en un baño María de precisión para coliformes fecales (Precision Fecal Coliform Bath) a (44.5±0.2) °C por (24-48) h (Rompré y col. 2002). Los tubos que resultaron positivos a la presencia de turbidez y gas fueron confirmativos de coliformes fecales. Para reportar el NMP se consultó con la tabla diseñada para indicar la concentración estimada de coliformes fecales por g de muestra, la cual es dada según las combinaciones de tubos positivos a la prueba en las diferentes diluciones usadas, el volumen inoculado por tubo y el número de tubos incluidos en cada serie (Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

Para la determinación del NMP de *Salmonella* spp., se pesaron 10 g de lodo seco y se le adicionó 90 mL de diluyente de peptona al 0.1 %, se homogenizó manualmente durante 1 minuto. A partir de esta suspensión se realizó el preenriquecimiento de la muestra. Se realizaron tres diluciones y 1 mL de cada dilución fue inoculada en 3 tubos que contenían 9 mL de CL (BD Bioxon) e incubados a (35-37) °C por 24 h (incubadora marca Hotpack, modelo 28912). Posteriormente se realizó el enriquecimiento de la muestra en dos medios de cultivo selectivos. Se tomó 1 mL de cada tubo preenriquecido con CL y se agregó 9 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis (R10 Broth), se realizó el mismo procedimiento pero con Caldo Tetrathionate Broth Base (Difco TM), seguido de una incubación a 43 °C por 24 h.

Una asada de los medios de enriquecimiento se sembró sobre los medios selectivos sólidos Sulfito Bismuto (SB), Salmonella-Shigella (SS) y Xilosa-lisina-desoxicolato (XLD) para aislar las colonias de *Salmonella* spp., presuntamente positivas. Después se incubaron las placas a 35 °C por un tiempo de (18 - 24) horas. Las colonias presuntivas a *Salmonella* spp., fueron sometidas a pruebas de identificación bioquímica y serológica. Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron: Agar Triple Azúcar Hierro (TSI), Agar lisina - hierro (LIA), medio SIM y Agar Citrato de Simmons. Las colonias que presentaron el patrón bioquímico correspondiente a *Salmonella* se les realizó la serotificación usando la reacción de aglutinación sujeta a la estructura antigénica. Finalmente, la combinación de tubos positivos o negativos se consultó con la tabla de NMP, planteada por Vanderzant y Splittstoesser (1992).

#### 5.1.1.2 Análisis de metales pesados en lodo residual

La determinación de los metales pesados en los lodos residuales se realizó por la técnica de espectrometría de masas acoplada a plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) en el laboratorio de Servicio Integral a la Agroindustria, S.A. de C.V (SIASA). El contenido de la muestra de lodo se expresó en mgkg<sup>-1</sup>, según establece la NOM-004-SEMARNAT-2002. Previamente el lodo fue digerido en horno de microondas, según la metodología de Lodo total 1, según establece la US EPA 3015 A (2016) (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América: US EPA, por sus siglas en inglés). Esta digestión se realizó en el Laboratorio de Bioingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala.

#### 5.2 Muestreo de suelos

Se tomaron muestras de suelos de la capa arable, a una profundidad de (0 - 30) cm, aproximadamente, con altos contenidos de arsénico desde su formación geológica. El Suelo A fue localizado a 0.10 km del jal minero, ubicado en Zimapán, estado de Hidalgo, México a los 20°73'39" N y 99°40'14" W. El suelo B con similares características morfológicas, pero ubicado a 1.80 km del jal minero, se localizó a los 20°73'60" N y 99°41'24" W. Ambas muestras se tomaron en época de sequía (abril/2017). La selección de los sitios de muestreo se basó en estudios realizados por Rico-Rodríguez y col. (2013) y Prieto-García y col. (2007), en esta zona. La toma de muestras se realizó en forma de zig—zag, las mismas fueron homogeneizadas y se aplicó el método de cuarteo para la obtención de la muestra final, según establece la NOM-021-SEMARNAT-2002. Los suelos fueron secados al aire, molidos y tamizados a un tamaño de partícula menor a 2 mm, en base a lo establecido en la mencionada norma oficial mexicana.

#### 5.3 Caracterización de los suelos

En la caracterización de los suelos se determinaron diferentes parámetros físicos, físico – químicos y químicos según lo establece la NOM-021-SEMARNAT-2002. Estos fueron: pH (AS-02), conductividad eléctrica (AS-18), humedad del suelo (AS-05), textura del suelo por el método de Bouyoucos (AS-09), densidad real con picnómetro (AS-04), contenido de materia orgánica por Walkley-Black (AS-07) y potencial de oxidación-reducción. En el análisis de este último se utilizó un equipo HANNA pH-8414, y se siguió el mismo procedimiento que en el análisis del pH del suelo. Las mediciones anteriores se efectuaron en el Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental (CEACA), de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Otros indicadores del estado de los suelos se determinaron en Fundación Produce Querétaro, ubicado en Prolongación Constituyentes km 5 s/n, Villa del Marqués, El Marqués, Querétaro C.P. 76240. Los parámetros fueron: capacidad de intercambio catiónico (AS-12, con acetato de amonio), nitrógeno total (AS-25), fósforo aprovechable (P) por Olsen 1 (AS-10), siguiendo lo establecido en la NOM-021-SEMARNAT-2002. También se determinó la concentración de potasio aprovechable (K) por Flame Photometer Protocolo P05-001A, y las concentraciones de calcio (Ca) y magnesio (Mg) por Flame Photometer Protocolo P05-007A.

Las propiedades redoximórficas de los suelos se calcularon por la Ecuación 1, según plantea la FAO (2006). Este parámetro se empleó para interpretar el potencial de oxidación-reducción (Eh) de estos suelos.

$$rH = 2pH + 2Eh/59$$

**Ecuación 1** Cálculo de las propiedades redoximorfólogicas de los suelos: rH: Parámetro empleado para interpretación del potencial redox; Eh: potencial de oxidación-reducción (mV); pH: -log c (H+) de los suelos.

### 5.4 Efecto del arsénico en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Se evaluaron cambios morfológicos del arsénico en frijol, en la etapa de emergencia de la planta hasta desarrollo de hojas trifoliadas. Para ello se tomaron semillas certificadas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) var. pinto saltillo. El estudio se realizó en el laboratorio de Mutagénisis Ambiental, perteneciente al Centro de Estudios Académicos de Contaminación Ambiental (CEACA), de la facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro. En el experimento se tomó una concentración de arsénico de 11 mgL<sup>-1</sup> y un testigo con agua destilada. Para la preparación de la disolución de arsénico de concentración 11 mgL<sup>-1</sup>, se tomó una sal de arsenato de sodio heptahidratado. El ensayo se realizó por triplicado empleando placas Petri a las que se les colocaron 10 semillas por placa, para un total de 30 semillas por tratamiento. Una vez colocadas las semillas se regó una vez con las soluciones y después se realizó un riego cada dos días con agua destilada según lo propuesto por Rico-Rodríguez (2013). Previamente se cuantificó el número de semillas germinadas por días en el tratamiento que contenía la solución de arsénico y el testigo.

Se determinó el efecto tóxico del arsénico por la Ecuación 2 planteada por Bagur-González y col. (2011), con lo cual se comparó el desarrollo de la raíz de cada tratamiento con respecto al control. Después se clasificó según la escala de toxicidad que emplearon estos mismos autores donde: (a) baja toxicidad: 0 a -0.25, (b) moderada: -0.25 a -0.5, (c) alta: -0.5 a -0.75 y (d) muy alta: -0.75 a -1.

$$RE = \frac{Elongación\left(muestra\right) - Elongación\left(control\right)}{Elongación\left(control\right)}$$

**Ecuación 2** Elongación residual normalizada de la raíz en la etapa de emergencia de la planta.

RE: Elongación de la radícula (por sus siglas en inglés).

#### 5.5 Diseño de experimento

El experimento se realizó en el invernadero del Centro de Estudios Académicos de Contaminación Ambiental (CEACA). Se dispuso de diez macetas o bolsas que contenían 3 kg de suelo o de sustrato (compuesto orgánico: suelo). En la elaboración de los sustratos se utilizó una composta obtenida de manera comercial y el lodo residual, previamente caracterizado. La mezcla de estos con los suelos se realizó en una proporción 25:75 (compuesto orgánico: suelo), según lo que establece la FAO (2013).

Los tratamientos fueron: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero (Suelo A); suelo ubicado a 1.80 km del jal (Suelo B); sustrato de suelo A: lodo (SLA); sustrato de suelo A: composta (SAMO); sustrato de suelo B: lodo (SLB) y sustrato de suelo B: composta (SBMO), como se muestra en el Cuadro 5. Las evaluaciones de los parámetros morfo-fisiológicos se realizaron en dos etapas del crecimiento durante el desarrollo de las primeras hojas (Fase I) y en la etapa de senescencia de las plantas de frijol (Fase II).

Cuadro 5. Esquema de evaluación de los parámetros morfo-fisiológicos en las plantas de frijol en dos de las fases de crecimiento.

	Suelos	Composta	Lodos
Fase I	Suelo A	SAMO	SLA
(30 plantas/tratamiento)	Suelo B	SBMO	SLB
Fase II	Suelo A	SAMO	SLA
(10 plantas/tratamiento)	Suelo B	SBMO	SLB

<sup>\*</sup> Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km; sustrato de suelo A: composta (SAMO); sustrato de suelo A: lodo (SLA); Suelo B: suelo ubicado a 1.80 km; sustrato de suelo B: composta (SBMO) y sustrato de suelo B: lodo (SLB).

La distribución de los tratamientos se realizó mediante un diseño sistémico para las dos fases de crecimiento evaluadas, tal como se muestra en el Cuadro 6. Este diseño es de 6x10, siendo cada maceta una unidad experimental.

<sup>\*</sup>Los números I y II se refiere a la fase de crecimiento de la planta.

Cuadro 6 Diseño de experimento en el crecimiento vegetativo de la planta de frijol (*P. vulgaris* L.)

					Tratam	nientos					
T6	T3	T6	T5	T1	Т3	T4	T2	T5	T1	T4	T2
T6	T3	T6	T5	T1	Т3	T4	T2	T5	T1	T4	T2
T6	T3	T6	T5	T1	Т3	T4	T2	T5	T1	T4	T2
T6	T3	T6	T5	T1	Т3	T4	T2	T5	T1	T4	T2
T6	T3	T6	T5	T1	Т3	T4	T2	T5	T1	T4	T2

Tratamientos:T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos.

# 5.6 Determinación de parámetros físicos en los sustratos

A los 57 días de preparados los sustratos se tomaron aproximadamente cuatro gramos de sustrato por maceta y se homogenizaron por tratamiento y se le aplicó el método de cuarteo, para completar 10 g por sustrato de cada tratamiento. Se les realizó a cada muestra la determinación de pH por el método AS-02, que establece la NOM-021-SEMARNAT-2002.

#### 5.7 Determinación de indicadores del crecimiento en plantas de frijol

Los parámetros que se evaluaron como indicadores de crecimiento en las plantas de frijol fueron: altura de las plantas (cm), peso fresco (g) (raíces y el resto de la planta), peso seco (g), siguiendo la metodología de Hernández-del Valle y col. (2012). Para la evaluación de los parámetros de la planta se tomó en cuenta las dos fases de crecimiento de la planta de frijol. La primera fase (FASE I) abarcó desde la emergencia hasta la floración, mientras que la Fase II fue desde el desarrollo del fruto hasta la senescencia de la planta (SAGARPA, 2014). La evaluación de los parámetros fisiológicos en la Fase I se realizó en dos etapas: a los 10 días después de la siembra (DDS), con la aparición del primer par de hojas verdaderas y a los 43 DDS, con las primeras flores. En la FASE II estos parámetros fueron evaluados a

los 92 DDS, una vez que se secaron las vainas del frijol, en las plantas que llegaron a la producción del fruto.

#### 5.7.1 Determinación de pigmentos fotosintéticos en plantas de frijol

Se determinó la clorofila a (Cla), clorofila b (Clb) y carotenoides totales (C<sub>x+c</sub>) por el método de acetona al 80 %, según plantea Sumanta y col. (2014). Las hojas empleadas fueron previamente lavadas y secadas, cuando todavía se encontraban en las plantas. Una vez colectadas las hojas se perforaron con un orador de 1 cm² de diámetro, cuidando no tomar los nervios de las hojas. Posteriormente se pesó en vaso de precipitado 0.500 g del material vegetal fresco y se le adicionó 10 mL de acetona al 80 %, se trabajó a bajas temperaturas. Después esta mezcla fue centrifugada a 3,000 rpm, y de ahí se tomó 1 mL el cual se diluyó en 14 mL de agua destilada. La absorbancia se midió a tres longitudes de onda a 663.2 nm, 646.8 nm y 470 nm, en un espectrómetro UV-Visible. El cálculo de las concentraciones de estos pigmentos fotosintéticos se realizó empleando las ecuaciones siguientes:

$$Cla = 12.25 * A_{663,2} - 2.79 * A_{646,8}$$
 (Ecuación 3a)  
 $Clb = 21.50 * A(_{646,8}) - 5.10 * A(_{663,2})$  (Ecuación 3b)  
 $Cx + c = (1000 * A(_{470}) - 1.82 * Cla - 85.02 * Clb)/198$  (Ecuación 3c)

**Ecuación 3 a,b,c:** Contenido de clorofila a (Cla) y clorofila b (Clb), carotenoides totales (Cx+c) expresados en μgmL-1 en plantas de frijol a los 82 DDS (FASE 2).

#### 5.8 Digestión asistida por horno de microondas

La digestión por horno de microondas fue realizada en el laboratorio de bioingeniería, en Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro. Para ello, se siguió el protocolo planteado por la US EPA (2016) para plantas, suelo y

lodos. El equipo empleado para ello fue un horno para digestión asistida por microondas (Multiwave PRO SOLV.), marca Anton Paar con rotor 16MF100.

#### 5.8.1 Digestión de los suelos

Antes de realizar la determinación de arsénico, se efectuó la digestión ácida de los suelos por el método de digestión total de suelos, estipulado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA 3051A, 2016). Para ello se toman 0.250 g de suelo y se le añade 6 mL de HCl grado reactivo y 2 mL de HNO<sub>3</sub>. Para ello se emplean vasos de teflón del horno de microondas, las muestras se harán por triplicado y se tendrá una solución blanco. Después se filtrarán y se conservarán a bajas temperaturas.

#### 5.8.2 Digestión de composta

La composta fue analizada como parte del experimento, pues se tomó como testigo positivo. La digestión de la composta se realizó según el método de los lodos planteado por la US EPA 3015A (2016), para analizar su concentración de arsénico. Para la determinación de arsénico se siguió el mismo protocolo que en los lodos residuales. Los valores que está presentó de arsénico fue de (5.55±0.0001) mgkg<sup>-1</sup> y resultan apropiados para el uso de este material orgánico en la agricultura según la NOM-004-SEMARNAT-2002.

# 5.8.3 Digestión en plantas de frijol

La digestión de las plantas de frijol se realizó por horno de microondas, siguiendo el protocolo que estable para material vegetal la US EPA 3051A (2016). Se tomó 0.500 g del material vegetal y se le añadió 7 mL de HNO<sub>3</sub> y 1 mL de HCl, se establecieron las condiciones en el equipo y se realizó la digestión por triplicado de las muestras de las plantas en dependencia de la fase de crecimiento en que se

tomaron las muestras. Estas fueron: parte aérea y raíz, para la primera fase del crecimiento; en la segunda fase de crecimiento fueron: parte aérea, raíz, vaina y grano.

## 5.9 Determinación de arsénico en plantas de frijol y suelos

Existen diferentes métodos químicos para la determinación de metales en el suelo, el mejor método está en dependencia de la concentración de estos elementos. La determinación de arsénico en las muestras de ambos suelos y los sustratos de estos con lodo y composta, se realizaron por la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).

El análisis se realizó en el laboratorio de SIASA, Servicio Integral a la Agroindustria, S.A. de C.V., ubicado en Camino Real de Carretas, Milenio 3ra Sección, No. 76209, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. El equipo utilizado fue un ICP-MS marca Thermo electron corporation X series y se siguió como método de determinación el planteado por la US EPA 200.8, 1994. Para la curva de calibración se empleó un material de referencia certificado multielemental (CAT.# ICP-MS 6020), High Purity Standars Lote: 1719915). Se realizaron tres lecturas por muestras y posteriormente los datos fueron procesados utilizando el Software Plasmalab. Las concentraciones de arsénico fueron expresadas en mgL-1 y posteriormente se les realizó la conversión a mgkg-1, teniendo en cuenta el peso del suelo o de la parte de la planta de frijol.

Se determinó el factor de translocación de arsénico (FT) en cada tratamiento, según Ruiz-Huerta y col. (2012) y Mao y col. (2016), como se indica en la Ecuación 4.

$$FT = \frac{c(As \ parte \ a\'erea)}{c(As \ ra\'iz)}$$

**Ecuación 4** Cálculo del factor de translocación de arsénico (FT), c (As parte aérea): concentración de arsénico en la parte aérea (mgkg<sup>-1</sup>), c(As raíz): concentración de arsénico en la raíz (mgkg<sup>-1</sup>).

#### 5.10 Determinación del índice de bioacumulación de arsénico

Se determinó el índice de bioacumulación (IB) de arsénico, como la relación de las concentraciones entre las diferentes partes de la planta y el suelo, según la Ecuación 5, empleada por Rico-Rodríguez (2013).

$$IB = \frac{c(As)pp}{c(As)s}$$

**Ecuación 5** Cálculo del índice de bioacumulación (IB), concentración de arsénico en partes de la planta: c (As)pp (mgkg<sup>-1</sup>), concentración de arsénico en suelo: c(As)s (mgkg<sup>-1</sup>).

#### 5.11 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se determinó la media y la desviación estándar utilizando el programa Excel 2013. El análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey, se realizaron en el programa IBM-SPSS para Window versión 23, 2013.

#### 6. Resultados y Discusión

### 6.1 Análisis microbiológico del lodo residual

#### 6.1.1 Análisis de Coliformes fecales

En la Figura 1 se observa el desarrollo de gases en cada una de las réplicas de las diluciones 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> y 10<sup>-4</sup> una vez pasadas 48 horas de incubación. En la diluciones 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-4</sup> hubo un desarrollo de gas de un 66.67 %, mientras que en la dilución 10<sup>-3</sup> fue de un 100%. De modo, que para la búsqueda del NMP se tuvo en cuenta un desarrollo de gases en la relación dilución-réplica de 2-3-2.



Figura 1 Detección de coliformes fecales en el lodo seco residual

Los resultados obtenidos se compararon en la tabla de Vanderzant y Splittstoesser, (1992) y se determinó como NMP de coliformes fecales en lodo seco 440 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, con un 95 % de nivel de confianza. Este mismo resultado de 2-3-2, cuando se analizó en la tabla de NMP, del Método 1681 planteado por la US EPA (2006) y se obtuvo un valor de 566.7 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, con un 95 % de nivel de confianza. Ambos resultados fueron menores a 1,000 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, valor que establecen la NOM-004-SEMARNAT-2002 y el Método 1681 de la US EPA (2006), para que un lodo sea considerado de clase A.

Gilsanz y col. (2013) mostraron valores de NMP de coliformes fecales menores a 180 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco y de 4,800 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco, en lodos urbanos provenientes de 13 plantas de tratamiento de líquidos residuales domésticos. Los NMP de coliformes fecales presentados en este estudio, se encontraron en este rango. Aunque, resultan ser mayores que los obtenidos por Luna-Zendejas y col. (2011), que reportaron valores entre 3 y 230 NMPg<sup>-1</sup> de peso seco, en cuatro tratamientos con composta de lodos. Por otro lado, Rodríguez-Canché y col. (2010) reportaron un valor de 1,600 NMPg<sup>-1</sup> de peso seco en lodos crudos provenientes de un tanque séptico, el cual fue superior a los reportados en este estudio. Diferencia que se asoció con el proceso de obtención, estos tuvieron un menor procesamiento que los lodos de este estudio, considerados como lodos secundarios o activados.

Los lodos caracterizados en este estudio, cumplen con el supuesto presentado por Castrejón y col. (2000). Estos autores encontraron que la mayoría de las muestras que reciben un proceso de estabilización alcalina, presentan concentraciones de coliformes que alcanzan los límites clase A. Además, los procesos de estabilización aireada, que ocurren cuando los lodos se almacenan por un tiempo antes de ser dispuestos o aplicados, conllevan a procesos de digestión donde se reducen los niveles de coliformes fecales.

### 6.1.2 Análisis de Salmonella spp.

En los resultados de la siembra en medios selectivos a *Salmonella* spp., se observó que solo dos colonias resultaron sospechosas al patógeno. Las mismas presentaron un color negro con brillo metálico. Estas características fueron descritas por Dickinson (1998), para *Salmonella* spp., sembrados en medio SB, e indican que hubo formación de sulfuro de hidrógeno con la correspondiente precipitación del hierro.

Los resultados de las pruebas bioquímica comprobatorias a existencia del patógeno, realizados en las dos colonias sospechosas y en una cepa de *Salmonella* spp., previamente caracterizada se muestran en el Cuadro 7. Para la cepa

caracterizada de *Salmonella* spp., no se observó fermentación de disacáridos, ni desarrollo de gas. Este resultado coincide con el reportado por Herrera-Arias y Santos-Buelga (2005) para *Salmonella* spp., encontrada en pescado. Según este autor las cepas de este microorganismo presentaron un patrón bioquímico típico en TSI, donde el pico es alcalino y el fondo ácido, indicando la no fermentación de los disacáridos (lactosa y sacarosa) y la fermentación de glucosa con producción de ácido sulfhídrico. Sin embargo, en las colonias 1 y 2 no se observó separación de fases indicando que los microorganismos fueron capaces de fermentar los azúcares glucosa, lactosa y sacarosa. También se observó desarrollo del gas sulfuro de hidrógeno en ambas colonias.

Cuadro 7 Determinación de Salmonella ssp. en el lodo seco

Colonia		TSI*			LIA*	SIM*	ACS
	Sacarosa lactosa	Glucosa	Gas	Lisina	Ácido sulfhídrico	Movilidad	
Colonia 1	+	+	+	-	+	+	+
Colonia 2	+	+		+	-	+	-
			+				
Salmonella	-	+	-	+	+	+	d*
ssp.							

<sup>\*</sup>d: variable

Según Dickinson (1998), la formación de un halo negro alrededor de la colonia (característica que no estuvo presente) y las dos características que se encontraron en las colonias sospechosas en el medio SB, son propias de formación de *Salmonella* spp., en este medio de cultivo. Sin embargo, estas colonias fermentaron a la lactosa y la sacarosa y este mismo autor planteó que las cepas de *Salmonella* spp., no son fermentadoras de estos azúcares. Los resultados obtenidos en las colonias 1 y 2 no coinciden con este supuesto.

La prueba de Agar lisina-hierro presentó variabilidad entre ambas colonias (Cuadro 7). La colonia 1 no utilizó el aminoácido lisina como fuente de carbono y nitrógeno, mientras que en la colonia 2 y la cepa de *Salmonella* spp., manifestaron un consumo de este compuesto. Por otro lado, la prueba SIM resultó positiva para

<sup>\*</sup>pruebas bioquímica: Agar Triple Azúcar Hierro (TSI), Agar lisina - hierro (LIA), medio SIM y Agar Citrato de Simmons (ACS).

las dos colonias y la cepa de *Salmonella* spp., esto evidenció que hubo movilidad en todos los microorganismos y mostró que los mismos tenían flagelos en la pared celular. En el caso de la prueba Agar Citrato de Simmons, la colonia 1 resultó positiva, no así para la colonia 2 y en la cepa de *Salmonella* spp., este resultado fue variable.

Los resultados de la prueba LIA indicaron que los microorganismos presentes en la colonia 2 y la cepa de *Salmonella* spp., tenían las enzimas lisina descarboxilasa y lisina desaminasa, que permitieron la degradación del aminoácido. Sin embargo, esta colonia no tuvo desarrollo de ácido sulfhídrico, como fue el caso de la cepa de *Salmonella* spp., y de la colonia 1, las cuales fermentaron la lactosa en presencia de citrato de amonio férrico y tiosulfato de sodio. Para el caso de la prueba Agar citrato de Simmons sólo la colonia 1 presentó un cambio de coloración definida, dado que los microorganismos actuaron en la descarboxilaron el ácido cítrico, para utilizarlo como fuente de carbono y energía (Dickinson, 1998). Las pruebas bioquímicas realizada mostraron que hubo diferencias microbianas entre colonias y con la cepa de *Salmonella* spp.

Con estos resultados se consultó la tabla de NMP, planteada por Vanderzant y Splittstoesser, (1992) y de ahí se obtuvo que en *Salmonella* spp., el NMP fue menor de 3 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco según la NOM-004-SEMARNAT-2002. De modo que se le pudo considerar como un lodo de clase A para este patógeno. Los resultados presentados en este estudio coinciden con los reportados por Luna-Zendejas y col. (2011), en compostas que provienen de lodos de aguas residuales de las industrias del papel y de refrescos. También fueron similares a los encontrados por Rodríguez-Canché y col. (2010), para biosólidos de composta provenientes de lodos residuales. Aunque resultaron ser menores a los planteados por estos últimos autores para lodos residuales primarios (> 2,400 NMPg<sup>-1</sup> de lodo seco).

#### 6.1.1 Contenido de metales en el lodo residual

En el Cuadro 8 se muestran las concentraciones de metales pesados y arsénico en el lodo residual de la PTAR de la industria CNH de México. Todos los

metales a excepción del cromo, presentaron valores admisibles para que este lodo sea considerado de clase A. El cromo tuvo un valor de 2,367.55 mgkg<sup>-1</sup>, el cual se encontró en el rango de 1,200 a 3,000 mgkg<sup>-1</sup>, y correspondió a un lodo de clase B, según establece la NOM-004-SEMARNAT-2002 y la US EPA (2006).

Cuadro 8 Valores de metales pesados y arsénico encontrados en el lodo residual

Contaminantes	Concentración
	(mgkg <sup>-1</sup> )
Arsénico	8.25
Cadmio	6.24
Cromo	2,367.55
Cobre	732.40
Plomo	41.07
Mercurio	0.417
Níquel	146.12
Zinc	1,077.41

Alveranga y col. (2015b) reportaron concentraciones < 1,000 mgkg<sup>-1</sup> para los metales pesados en lodos de la agroindustria y lodos que provienen de aguas residuales. Las mismas coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo, para la mayoría de los metales. Sin embargo, estos autores reportaron un valor de cromo 5.6 mgkg<sup>-1</sup>, el cual fue inferior un 99.76 % al encontrado en este estudio (Cuadro 8).

Los estudios de Castrejón y col. (2000), en lodos de 18 PTAR ubicadas en diferentes lugares de México encontraron concentraciones de cromo entre 0.3 y 328.2 mgkg<sup>-1</sup> y concentraciones de mercurio y níquel en dos de las PTAR, superiores a las reportadas en este estudio. Las cuales justifican por la industrialización de los lugares donde están las PTAR. Los valores de cromo reportados en el presente trabajo, pueden estar asociados a los procesos industriales que se realizan en la empresa CNH de México.

Alveranga y col. (2017) no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de cromo que tenía un suelo limoso (tratamiento control) y el mismo suelo con la aplicación de lodos provenientes de aguas residuales municipales y lodos de composta de la agroindustria. Los valores que estos reportaron después de un año fueron de 211.4 mgkg<sup>-1</sup> de cromo (Cr) para el tratamiento control y 185.7 y 189.7 mgkg<sup>-1</sup> de cromo, para aquellos que contenían los lodos de las aguas residuales y de la agroindustria, respectivamente. Esto les permitió concluir que la aplicación de lodos no contribuye significativamente al incremento de cromo en el suelo, debido a la baja movilidad de este elemento.

Wong y col. (2001) reportaron una concentración de Cr de 2,243 mgkg<sup>-1</sup>, en lodos de una PTAR que recibe aguas de una industria de curtiduría. Este valor fue inferior en un 5.28 % al reportado en este estudio. Estos autores sugieren que en los lodos el Cr tiene baja disponibilidad basado en una extracción que realizaron con ácido dietilentriaminopentaacético, donde obtuvieron valores menores a 0.3 mgkg<sup>-1</sup> de este elemento.

Según la NOM-004-SEMARNAT-2002, las concentraciones de todos los metales encontradas en el lodo residual obtenido de la PTAR de la industria CNH de México, son admisibles para que este pueda ser empleado con fines agrícolas. Los metales que contiene el lodo, entre ellos el Cr, pueden precipitar dadas las condiciones de pH de los suelos en estudio. Esto se fundamenta en una correlación negativa entre el pH del suelo y los metales pesados. En aquellos suelos con pH>8, los metales pesados precipitan dentro de la matriz del mismo (Shadid y col., 2017).

# 6.1.2.1 Concentración de cromo en raíz, parte aérea y granos del frijol (*Phaseolus vulgaris*)

Los resultados de acumulación de cromo en raíz, parte área y granos de aquellos tratamientos que contenían lodo residual se muestran en el Cuadro 9. Esta evaluación se llevó a cabo dado que el lodo tenía niveles elevados de este metal. Entre los tratamientos hubo diferencias significativas (p<0.05) en cada parte de la planta evaluada. El tratamiento T3 que contenía lodo y suelo A presentó menores

concentraciones de Cr en comparación con el T6. Esta variación en el contenido de cromo entre los tratamientos se debe a la diferencia de las concentraciones de Cr entre los suelos, para el suelo A el valor del cromo fue de 2,462 mgkg<sup>-1</sup> y para el suelo B fue de 4,267 mgkg<sup>-1</sup>.

Cuadro 9 Concentración de cromo en frijol (*P. vulgaris*) de los tratamientos con lodo residual

Tratamientos	Partes de la	Concentra	ción de cromo
Tratamientos	planta de frijol ( <i>P. vulgari</i> s)	(mgkg <sup>-1</sup> )	10 <sup>-3</sup> (mgmL <sup>-1</sup> )
	Grano	2.04±0.09 <sup>f</sup>	0.02±0.0007 <sup>f</sup>
T3	Parte aérea	27.72±0.12 <sup>d</sup>	0.28±0.0008 <sup>d</sup>
	Raíz	107.59±0.30 <sup>b</sup>	1.08±0.0021 <sup>b</sup>
	Grano	5.48±0.80 <sup>e</sup>	0.06±0.0001e
T6	Parte aérea	85.91±0.02 <sup>c</sup>	0.87±0.0005°
	Raíz	159.43±0.07 <sup>a</sup>	1.60±0.0057 <sup>a</sup>

<sup>\*</sup> T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos; T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos.

La acumulación de cromo siguió el orden raíz> parte aérea > granos, presentando diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos y entre las partes de la planta de frijol. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Kumar y Chopra (2014), los cuales plantearon que la translocación del Cr en *P. vulgaris* varía según el orden de raíz > tallo > hojas > frutos, en suelos tratados con un 20, 40, 60, 80 y 100 % de lodo residual.

Según Parr y Taylor (1982), en las plantas de frijol (*P. vulgaris* var. bush blue lake) sometidas a estrés por altas concentraciones de cromo, disminuye la germinación en un 48 % en comparación con un tratamiento control que no contiene cromo. También encontraron que altos niveles de materia orgánica redujo significativamente la toxicidad del cromo en la etapa de germinación de la planta. En el experimento del presente estudio no se observó síntomas de estrés por cromo en las plantas de frijol de los tratamientos SLA y SLB, que tenía el sustrato suelo: lodo (3:1 v/v) (epígrafe 2.5). En ambos tratamientos hubo un 100 % de plantas germinadas en un periodo de 10 días. Esto puede estar asociado al alto contenido

<sup>\*</sup> Los resultados obtenidos se refieren al promedio de tres réplicas

de materia orgánica que le fue incorporado al suelo por el uso de lodos, al pH del sustrato suelo: lodo y a la calidad de la semilla de frijol.

Según Nagajyoti y col. (2010), se considera que las plantas de frijol tienen altos niveles de cromo hexavalente cuando la concentración es de 500 mgkg<sup>-1</sup>. Oliveira (2012) y Sinha y col. (2018) plantean que el cromo (IV) resulta tóxico para la mayoría de las plantas agronómicas cuando se encuentra a una concentración entre (0.5 - 5.0) mgmL<sup>-1</sup>. Los valores encontrados de Cr total, expresados en mgL<sup>-1</sup> (Cuadro 9) para los granos, parte aérea y raíz son menores que el límite inferior que plantean estos autores. Las plantas de frijol tienen concentraciones menores a 1 µgg<sup>-1</sup> (1 mgkg<sup>-1</sup>) bajo condiciones fisiológicas, para los iones de cromo (Oliveira, 2012; Sinha y col., 2018; Stambulska y col., 2018).

### 6.1.1 Contenido de humedad, materia orgánica y pH del lodo residual

El lodo residual obtenido de la PTAR presentó un contenido de humedad de  $(91.55 \pm 0.11)$  %. Este valor fue alto, pero según Collard y col. (2017) los lodos pueden contener hasta un 97 % de agua. Trabajos previos de Huiliñir y Villegas (2015) y Kulikowska (2016) reportaron  $(88.25 \pm 8.36)$  % y  $(87.0 \pm 3.2)$  %, respectivamente, en lodos de PTAR, mientras que Wong y col. (2001) encontraron una humedad entre  $(73.1 \pm 0.12)$  % y  $(85.8 \pm 0.02)$  %, en cuatro lodos de aguas residuales. Estos valores fueron similares a los reportados en el presente trabajo.

El contenido de materia orgánica del lodo fue (84.08 ± 2.72) %, este valor comúnmente es encontrado en los lodos, lo cual les permite ser valorizados en el uso agrícola (Collard y col., 2017). Kulikowska (2016) encontró un contenido materia orgánica de 73.2±2.6 %. Por otra parte, Collard y col. (2017) reportaron un rango de (620 - 746) mgg<sup>-1</sup> de lodo (62.0 - 74.6 %) en materia orgánica. Estos valores son inferiores en un rango de 13 % a 26.3 %, al valor reportado en este estudio. Según Collard y col. (2017) estos niveles de materia orgánica son altos para un lodo residual y en estos se favorece la formación de sustancias húmicas cuando son secados al sol.

El lodo presentó un contenido de carbono orgánico de  $(48.77 \pm 1.58)$  %, el cual fue alto según plantearon Francisco-Atencio y col. (2011). Estos autores encontraron un contenido de carbono orgánico de 41.94 % y 61.55 %, en un lodo activado de una PTAR de uso doméstico, el cual fue evaluado en dos periodos de tiempo. El valor de carbono orgánico de este lodo residual fue superior en un 14 % al primer valor reportado. Por otro lado, Wong y col. (2001) mostraron valores de C orgánico entre 22.1 $\pm$ 0.15 % y 28.2 $\pm$ 0.14 %, en lodos de aguas residuales de cuatro regiones en China. También Kulikowska (2016) encontró un valor de carbono orgánico total de (38.6  $\pm$  1.8) % en un lodo de aguas residuales obtenido en un bioreactor aireado. Collard y col. (2017) reportó un carbono orgánico entre 264 y 384 mgg<sup>-1</sup> de lodo (26.4 - 38.4) %, bajo diferentes condiciones de secado. Estos resultados fueron menores al presentado en este trabajo.

El lodo residual presentó un valor de pH de  $6.6 \pm 0.2$ , similar al reportado por Collard y col. (2017). Estos autores reportaron una disminución del pH de 7.4 a 6.6 en un lodo obtenido en un bio-reactor aireado, una vez que se le aplicó secado solar. Por otra parte, Alveranga y col. (2015a) obtuvieron valores de pH de  $7.1 \pm 0.0$  y  $7.4 \pm 0.4$  en lodos residuales de dos PTAR y alegaron que al ser estabilizados químicamente con carbonato de calcio se esperaría un valor de pH entre 7 - 8. De modo que el valor de pH reportado en este trabajo se relaciona más con el tratamiento de secado solar al cual se sometió el lodo residual.

### 6.2 Caracterización de los suelos

### 6.2.1 Caracterización física y química de los suelos

En el análisis textural de los suelos en estudio (Cuadro 10), se obtuvo un contenido de arena de 60.38 % para el suelo A y de 65.10 % para el suelo B, siendo esta la partícula predominante en estos suelos. El contenido de limo fue de 17.64 % y 12.00 %, para los suelos A y B, respectivamente, estas partículas se encontraron en menor proporción. El contenido de arcilla fue superior al 20 %, siendo 21.98 % para el suelo A y 22.00 % para el suelo B. El porcentaje obtenido en estos suelos para cada una de las partículas, corresponden con la clasificación

textural de suelos franco arcillo arenosos, según lo establece el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2016). En la guía para la descripción de los suelos de la FAO (2009), para esta clasificación textural establece un porcentaje de arcilla entre 20 % y 35 %, lo que corresponde con lo obtenido para estos suelos.

Cuadro 10 Clasificación textural de los suelos

	Suelo A	Suelo B
%Arena	60.38	65.10
% Limo	17.64	12.00
%Arcilla	21.98	22.90
Textura*	Franco arcillo arenoso	Franco arcillo arenoso

Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, Suelo B: suelo ubicado a 1.8 km del jal minero

El porcentaje de arcilla en ambos suelos fue similar al encontrado por Kalinina y col. (2014), para suelos con altos contenido de calcio. Los autores reportaron un porcentaje de arcilla de 25.5 %, en un suelo nunca antes cultivado y un 21.5 % de arcilla para un suelo que fue cultivado durante 42 años. El suelo A tuvo una mayor correspondencia con aquel suelo cultivado, pues ambos han sido dedicados a actividades agrícolas.

Cuadro 11 Características físicas de los suelos

Parámetros	Suelo A	Suelo B
Humedad (%)	1.51	1.77
Eh (mV)	-58.5	<i>-</i> 77.5
CE (dSm <sup>-1</sup> )	0.85	0.23
Densidad real (gcm <sup>-3</sup> )	2.41	2.07
Densidad aparente (gcm <sup>-3</sup> )	1.39	1.22

Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, Suelo B: suelo ubicado a 1.8 km del jal minero

El porcentaje de humedad reportado para ambos suelos fue bajo, siendo para el suelo A  $(1.51 \pm 0.0002)$  % y para el suelo B  $(1.77 \pm 0.06)$  % (Cuadro 11), corresponden con la textura y la época del año en que se realizó el muestreo. Prieto-García y col. (2007) reportaron una humedad 6.33 % en un suelo de la comunidad del Salitre en Zimapán y es superior en un 72.99 % al mayor valor reportado en este

estudio. Probablemente esta diferencia se debe a que estos autores muestrearon en diferente época del año. Según Legates y col. (2010) la humedad del suelo en condiciones de sequía tiene una fuerte dependencia de las condiciones climáticas, del tiempo, la biogeografía y la geomorfología del lugar.

Los valores del potencial de oxidación-reducción para los suelos en estudio se muestran en el Cuadro 11. Los mismos fueron de -58.5 mV para el suelo A y de -77.5 mV para el suelo B. El valor que se encontró en el suelo A fue superior en 1.37 % al encontrado por Rico-Rodríguez (2013) de -57.7 mV, en un suelo del Salitre, Zimapán. Mientras que el valor del suelo B difiere en un 9.29 %, al reportado por Prieto-García y col. (2007) de -70.3 mV. Estos últimos autores también muestrearon en un suelo de Salitre, Zimapán e indicaron que los suelos con un Eh entre -50 mV y -150 mV, son reductores intermedios.

El potencial redox puede variar en dependencia del pH del suelo (Alonso-Santos y col., 2008), de ahí que los suelos de una misma región como el suelo A y el suelo B presenten valores diferentes de potencial redox. Sin embargo, los valores de rH estuvieron en el mismo rango y expresan las condiciones redoximorfológicas de los suelos (FAO, 2009). Para el suelo A el valor de rH fue de 2.25, mientras que para el suelo B fue de 2.90. Según Alonso-Santos y col. (2008), los valores bajos de rH, como los obtenidos en estos suelos muestran predominio de las condiciones reductoras. Según establece la Base Referencial de los Suelos del Mundo, WRB (por sus siglas en inglés) estos valores de rH menores a 10, indicaron la presencia de sulfuros metálicos y la formación de metano en los sitios de estudio. Las condiciones reductoras se relaciona con el estado de aireación del suelo y la disponibilidad de algunos nutrientes, lo cual resulta de gran importancia para el desarrollo de las plantas (FAO, 2009).

La conductividad eléctrica (CE) del suelo B tuvo un valor de 0.23 dSm<sup>-1</sup> (Cuadro 11). Este valor fue similar a los reportados por Rico-Rodríguez (2013) de 0.27 dSm<sup>-1</sup> y Prieto-García y col. (2007) de 0.22 ± 0.02 dSm<sup>-1</sup>, en suelos del Salitre, municipio de Zimapán. La CE del suelo A tuvo un valor de 0.85 dSm<sup>-1</sup>, y fue superior a la del suelo B en un 74.12 %. Corona-Chávez y col. (2017) reportaron una CE de 1.48 dSm<sup>-1</sup> en la presa de jales "Cerros" en el distrito minero de Tlalpujahua y El

Oro, México. Por otra parte, Pérez-Martínez y Romero (2015) mostraron conductividades eléctricas de 2.13 dSm<sup>-1</sup> y 2.51 dSm<sup>-1</sup> en jales inalterados y suelos afectados por la dispersión de los jales, respectivamente, en el estado de San Luis Potosí, México. Estos autores explicaron que los valores altos de CE se debieron a la presencia de sulfuros metálicos.

Según Moreno-Tovar y col. (2009), en los jales mineros de Zimapán se presentan una gran variedad de especies minerales ricas en hierro y otros elementos, los cuales están en varias etapas de hidrólisis. La diferencia mostrada en las conductividades eléctricas de los sitios en estudio se debe a la formación de sulfuros metálicos y la cercanía al jal minero en el suelo A. No obstante, ambos suelos se clasifican con efectos de salinidad despreciables, pues los valores son inferiores a 1 dSm<sup>-1</sup> según lo establece la NOM-021-SEMARNAT-2002.

La USDA (2011) plantea que en los suelos de zonas áridas los valores de CE deben ser elevados debido a que se acumulan una mayor cantidad de sales en la superficie del perfil, debido a los bajos niveles de precipitación. Sin embargo, indica que existen otros factores como la textura, la cantidad y tipo de sales solubles, que son determinantes en la CE. Según los resultados encontrados, en los suelos A y B (Cuadro 11), la CE tiene una mayor dependencia de estos últimos factores. Producto de la composición textural de estos suelos, donde predomina la arena, las sales pueden moverse a través del perfil, hacia horizontes inferiores.

El suelo A tuvo una densidad real de 2.41 gcm<sup>-3</sup>, siendo superior al encontrado en el suelo B de 2.07gcm<sup>-3</sup> (Cuadro 11). Según plantea USDA (2011) la densidad real de un suelo ideal con alto contenido de minerales es de 2.65 gcm<sup>-3</sup>. Los valores reportados corresponden con un alto contenido de minerales en los suelos y son superiores al reportado por Rico-Rodríguez (2013) de 1.9 gcm<sup>-3</sup>, en suelos de la misma región de este estudio. La diferencia entre este último valor y los encontrados en los suelos A y B, puede relacionarse con la cercanía al jal minero que presentan estos últimos, en relación con el suelo de este autor. Moreno-Tovar (2009) indica que en los procesos de mineralización secundaria, de oxidación y neutralización, que ocurren en estos lugares hay hierro reactivo. Este metal puede formar oxihidróxidos y sulfatos férricos en los bordes de algunos minerales primarios

como la pirita y pirrotita. También implica que se encuentren minerales secundarios como sulfosales.

Por otra parte, Lisetskii y col. (2015) reportaron valores de densidad real entre (2.22 y 2.69) gcm<sup>-3</sup> para suelos con altos contenidos de calcio, con diferentes años de actividad antropogénica. Estos fueron similares al reportado para el suelo A de este estudio. Sin embargo, el suelo B presentó una diferencia de un 16.19 % con respecto al valor de un suelo virgen con densidad real de 2.47 gcm<sup>-3</sup>, reportados por estos mismos autores.

La densidad aparente de los suelos fue de 1.39 gcm<sup>-3</sup> para el suelo A y 1.22 gcm<sup>-3</sup> para el suelo B (Cuadro 11). Ambos valores están dentro del rango de suelos francos según la NOM-021-SEMARNAT-2002. Kalinina y col. (2014) reportaron valores de densidad aparente en los horizontes A con diferentes años de manejo agrícola, en un rango de (1.28 a 1.38) gcm<sup>-3</sup>, en suelos ricos en calcio. Lisetskii y col. (2015) reportaron valores de densidad aparente de 1.29 gcm<sup>-3</sup> para un suelo franco no manejado, Chernozem petrocálcico. Los resultados que muestran estos autores son similares a los reportados en los suelos de este estudio: suelo A (bajo condiciones de manejo agrícola) y suelo B (sin manejo agrícola). Por otra parte, Rico (2013) encontró un valor de 1.02 gcm<sup>-3</sup> para un suelo de Zimapán. Este valor fue menor a los encontrados para los suelos A y B, debido al alto contenido de materia orgánica (3.74 %), que encontró este autor en su suelo; el cual fue superior a los contenidos de materia orgánica reportados en este estudio.

#### 6.2.3 Caracterización química de los suelos

Las propiedades químicas obtenidas en ambos suelos se presentan en el Cuadro 12. El suelo A presentó un contenido de materia orgánica (MO) de 1.44 %, mientras que el suelo B su contenido fue de 0.79 % (Cuadro 12), según la FAO (2018) los suelos calcáreos suelen ser pobres en el contenido de materia orgánica. Ambos valores resultan ser bajos según la norma oficial mexicana (NOM-021-SEMARNAT-2002), que establece límites de contenido de MO bajo entre (0.6 y 1.5) %. Entre los valores encontrados existe una diferencia de un 45.14 %, debido que

el suelo A recibe restos vegetales que provienen de la agricultura que en este se practica, lo cual trae consigo un incremento de la materia orgánica del suelo a mediano o largo plazo.

Cuadro 12 Características químicas de los suelos

Parámetros	Suelo A	Suelo B
Contenido de materia orgánica (%)	1.44	0.79
рН	7.83	8.02
Nitrógeno Total (%)	0.103	0.135
Fósforo aprovechable (mgkg <sup>-1</sup> )	4.30	19.70
Potasio aprovechable (mgkg-1)	109.75	241.85
Calcio aprovechable	11,275.25	12,013.20
(mgkg <sup>-1</sup> )		
Magnesio aprovechable	68.02	52.63
(mgkg <sup>-1</sup> )		

Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, Suelo B: suelo ubicado a 1.8 km del jal minero

Estos resultados fueron inferiores al reportado por Prieto-García y col. (2007) con  $(1.70 \pm 0.17)$  % de MO en suelos del Salitre, Zimapán y al presentado por Teutscherova y col. (2018) de 1.65 % de MO  $(9.55 \text{ gkg}^{-1})$  de carbono orgánico total), para un calcisol franco arenoso. Sin embargo, el resultado que se obtuvo para el suelo A fue similar al que mostraron Lisetskii y col. (2015) de 1.46 % de MO para un suelo Chernozem cálcico bajo condiciones de barbecho. Por otra parte, Salehi (2018) reportó un valor de MO de 0.9 % en el horizonte Ap de un perfil en un suelo agrícola con predominio de los procesos de calcificación y formación de yeso, resultado que fue similar al encontrado en el suelo B.

El suelo A presenta un valor de pH de 7.83, el cual resulta ser menor al encontrado en el suelo B de 8.02 (Cuadro 12). Esta diferencia está asociada a la acidificación que ocurre en los suelos con actividad minera (Mohanty y col., 2010). Los valores de pH reportados fueron superiores a 7, lo cual resulta característico en los suelos de Zimapán (Urbano-Reyes y col., 2007). El primer suelo clasifica como ligeramente alcalino y el segundo como moderadamente alcalino, según la USDA (1998). La clasificación del último suelo coincide con la planteada por Rico (2013) y Prieto-García y col. (2007). Estos autores encontraron valores de pH de 8.11 ± 0.06

y 7.90 ± 0.04, respectivamente, en suelos del Salitre, localidad que pertenece a la misma región geográfica de los suelos en estudio. También coincide con lo reportado por Teutscherova y col. (2018) en un suelo de textura franca (pH=8.00), con altos contenidos de carbonatos.

Los valores de pH de los suelos cálcicos se relacionan con los procesos de formación de carbonatos, en los cuales interviene bacterias y hongos. Estos microorganismos pueden excretar iones Ca<sup>2+</sup> a través de sus rutas metabólicas y con ello se incrementa el pH de la solución del suelo a valores mayores de 7.2 (Sposito, 2008). Estas condiciones de pH influyen en la permanencia y movilidad de iones en el suelo (Weil y Brady, 2016), en la materia orgánica del suelo, ya que puede influir sobre la transformación química y microbiana de la misma (Sposito, 2008) y en la solubilidad de metales como calcio, magnesio, hierro, molibdeno, manganeso, cobre y zinc (USDA, 1998).

El contenido de nitrógeno para ambos suelos (Cuadro 12) se clasifica como bajo según la NOM-021-SEMARNAT-2002. Estos resultados corresponden con la región geográfica donde se localizan estos sitios. Según la FAO (2018) los suelos calcáreos, localizados en su mayoría en zonas áridas del planeta, suelen ser pobres en contenido de nitrógeno y en los mismos resulta frecuente la pérdida por volatilización de este elemento. Además, los valores de pH característicos (pH > 7.2 en la solución del suelo), influyen en la baja disponibilidad del nitrógeno (Sposito, 2008; Weil y Brady, 2016) e inducen una reducción catalítica enzimática de nitratos a nitritos (Sposito, 2008). También los altos contenidos de iones intercambiable Ca²+ y Mg²+ aceleran los procesos de nitrificación (Weil y Brady, 2016). De modo que las bajas cantidades de nitrógeno en los suelos A y B, se justifican con los valores de pH que inducen pérdidas por volatilización y por la abundancia de los iones Ca²+ y Mg²+, que propician la ocurrencia de procesos de nitrificación llegando solo hasta la producción de nitritos.

El contenido de nitrógeno total para el suelo A fue ligeramente superior a los presentados por Teutscherova y col. (2018), estos autores mostraron valores de 0.09 % de nitrógeno total para un suelo con altos contenidos de calcio, obtenido en una estación agrícola de Madrid, España. Por otra parte, el contenido de nitrógeno

del suelo B fue similar al encontrado por Prieto-García y col. (2010) de 0.14 % en un suelo de Zimapán.

El valor de fósforo aprovechable resultó ser bajo para el suelo A y alto para el suelo B (Cuadro 12), según establece la NOM-021-SEMARNAT-2002, con una diferencia de un 78.17 % entre uno y otro. Moreno-Tovar y col. (2009) expresaron que los suelos de las presas de jales mineros en Zimapán presentan gran variabilidad en el contenido de P, según Strawn y col. (2016) la misma se relacionada con la asociación Ca-P presente en los suelos calcáreos. En este tipo de suelo el fósforo reacciona con elementos como el calcio, el hierro y el aluminio formando compuestos pocos solubles (Reddy y Rao, 2000), de ahí que los mismos se caractericen por presentar escases del mismo (FAO, 2018). Lisetskii y col. (2015) obtuvieron contenidos de P de 4.33 mgkg<sup>-1</sup> en un Chernozem cálcico y de 15.77 mgkg<sup>-1</sup> en un Chernozem petrocálcico. El primer valor coincidió con el reportado para el suelo A, mientras que el segundo valor fue 19.95 % menor al reportado para el suelo B. Sin embargo, Strawn y col. (2016) encontraron un valor de P de 813 mgkg<sup>-1</sup> en el tratamiento control de un suelo calcáreo, el cual fue muy superior a los encontrados en este trabajo.

El contenido de calcio aprovechable fue muy alto para ambos suelos (Cuadro 12), según la NOM-021-SEMARNAT-2002. El suelo B mostró un valor superior en 6.14 % con respecto al valor del suelo A. Los altos contenidos de este elemento en los suelos A y B, está dado por el origen de los mismos, pues presentan una acumulación secundaria sustancial de material calcáreo (WRB, 2007). La concentración de calcio que reportaron Kalinina y col. (2014) de 3,360 mgkg<sup>-1</sup> para un suelo sin manejo agrícola y con altos contenidos de calcio, resultó inferior en un 70.2 % al obtenido en el suelo A y en un 72.0 % al reportado para el suelo B. Por otro lado, Hernández-Acosta y col. (2009) encontraron altos contenidos de calcio en nueve sitios de Zimapán, los valores reportados estuvieron en un rango entre 2,720 a 11,920 mgkg<sup>-1</sup>. Este último valor fue superior en un 5.41 % al reportado para el suelo A e inferior en un 0.77 % al reportado para el suelo B. También Moreno-Tovar y col. (2009) reportaron altos y variables porcentajes de calcio (2.45 % - 20.25 %) en presas de jales mineros en Zimapán. Según Sposito (2008) en los suelos con pH

superior a 7.2 se favorece la formación de carbonatos de calcio, los cuales tienden a acumularse en suelos áridos.

Las concentraciones de magnesio aprovechable presentes en ambos suelos fueron de 68.02 mgkg<sup>-1</sup> para el suelo A y de 52.63 mgkg<sup>-1</sup> para el suelo B (Cuadro 12). En el caso del suelo A este clasificó como bajo según la NOM-021-SEMARNAT-2002, que establece un rango de 60 a 156 mgkg<sup>-1</sup>. El suelo B presentó un contenido de Mg inferior a 60 mgkg<sup>-1</sup> clasificado como muy bajo según la misma norma mexicana. En estos suelos se observó una relación inversa entre los contenidos de Ca y Mg, aquel que presentó las mayores concentraciones de Ca mostró los menores valores de Mg. Resultados similares encontró Hernández-Acosta y col. (2009), estos autores reportaron concentraciones de Mg desde 0 hasta 384 mgkg<sup>-1</sup>, correspondiendo el valor de 0 mgkg<sup>-1</sup> al sitio con mayor concentración de calcio. Moreno-Tovar y col. (2009) encontraron bajas concentraciones de Mg, con un valor promedio de (1.08±0.38) % y sin mucha variabilidad en sus resultados.

Las concentraciones de potasio aprovechable en los suelos en estudio (Cuadro 12), fueron de 109.75 mgkg<sup>-1</sup> (suelo A), la cual fue baja según NOM-021-SEMARNAT-2002; y de 241.85 mgkg<sup>-1</sup> (suelo B) siendo esta última alta según la misma norma oficial. Hernández-Acosta y col. (2009) encontraron concentraciones variables de potasio entre 85.8 mgkg<sup>-1</sup> y 366.6 mgkg<sup>-1</sup> en ocho sitios del municipio de Zimapán. Este último valor fue 34.01 % superior a la concentración de K aprovechable en el suelo B. Mientras que el suelo A presentó una diferencia de 2.92% con uno de los sitios que estos autores reportaron de concentración 113.1 mgkg<sup>-1</sup>.

### 6.2.4 Comparación de los pH en suelos y sustratos a los 82 DDS

El pH que presentaron los suelos a los 82 DDS (Cuadro 13), se clasificaron según estableció la USDA (1998), como neutro (SLA), ligeramente alcalinos (SLB, suelo A y SAMO) y moderadamente alcalinos (suelo B y SBMO). Los suelos A y B, no presentaron diferencias en los valores de pH con respecto a la medición realizada en el inicio del experimento.

Cuadro 13 Valores de pH de los suelos a los 82 DDS

Tratamientos	рН
Suelo B	8.10±0.02
SBMO	7.97±0.11
SLB	7.60±0.07
Suelo A	7.85±0.03
SAMO	7.72±0.08
SLA	7.32±0.13

Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, SAMO: sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, SLA: sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, Suelo B: suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, SBMO: sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, SLB: sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Los resultados obtenidos se refieren al promedio de tres réplicas

Para el caso de los tratamientos que contenían el suelo A (SAMO y SLA) disminuyeron el pH en un 1.66 % y 6.75 %, respectivamente con respecto al control. Así mismo, en los tratamientos SBMO y SLB cuyos valores de pH fueron menores en un 1.60 % y un 6.17 %, respectivamente, en relación con el suelo B.

Los valores de pH obtenidos en los tratamientos a los 82 DDS, con excepción del valor de pH del sustrato SLA fueron superiores al rango de 6.5 a 7.5, que establece SAGARPA (2016) como apropiado para el cultivo del frijol. Los tratamientos que contenían material orgánico disminuyeron el pH de estos suelos, siendo más efectivo aquellos que contenían lodo residual. El uso de materia orgánica ayudó a la disminución del pH del suelo, acondicionando este para el crecimiento de plantas como el frijol.

#### 6.3 Contenido de arsénico en suelos

En el Cuadro 14 se observa que los valores de la concentración de arsénico en los suelos en estudio presentaron diferencias significativas (p<0.05). El contenido que se obtuvo en el suelo A fue 10.94 veces superior al del suelo B, esta diferencia se relacionó con la localización de los sitios, dada la cercanía del suelo A al jal minero. Ambas fueron muy superiores al valor de 22 mgkg<sup>-1</sup> que establece la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para que los suelos sean considerados de uso agrícola.

Cuadro 14 Concentración de arsénico en los suelos

Concentración de Arsénico (mgkg <sup>-1</sup> )				
Suelo A	9,051.92±0.11 <sup>b</sup>			
Suelo B	826.63±0.02 <sup>a</sup>			

Suelo A: suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, Suelo B: suelo ubicado a 1.8 km del jal minero Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05). Los resultados obtenidos se refieren al promedio de tres réplicas

Autores como Gutiérrez-Ruiz y col. (2007) y Pérez-Martínez y Romero (2015) reportaron concentraciones de As de 499 mgkg<sup>-1</sup> y 1,893 mgkg<sup>-1</sup>, respectivamente, en presas de jales mineros de los estados de Chihuahua y San Luis Potosí. También Ruiz-Huerta y Armienta-Hernández (2012) obtuvieron concentraciones de As de 3,744 mgkg<sup>-1</sup> en el jal minero, que fue 8.21 veces superior, a las que reportaron en un suelo cercano (456 mgkg<sup>-1</sup>). El valor de As del suelo A fue 10.95 veces superior al reportado para el suelo B. La concentración de arsénico en los suelos varió en relación con la distancia al jal minero.

Por otra parte, las concentraciones de As reportadas en los suelos de estudio se encontraron dentro del rango de valores que presentó Vallejo-Miranda (2015) de (5,253 - 16,829) mgkg<sup>-1</sup> de As, en jales y sedimentos de la microcuenca San Miguel, municipio de Zimapán. Este autor asoció las altas concentraciones de arsénico de origen antropogénico encontradas en Zimapán con el proceso de flotación selectiva, que se realiza para la extracción de minerales en la zona. También Moreno-Tovar y col. (2009) mostraron concentraciones de arsénico hasta de 38,700 mgkg<sup>-1</sup>, en suelos y presas de jales de Zimapán, las cuales fueron superiores a las encontradas en los suelos A y B.

Según Urbano-Reyes y col. (2007) las concentraciones de arsénico y otros metales pesados, en suelos del distrito de Zimapán, varían a través de los horizontes de un perfil. El estudio indicó que los horizontes superficiales fueron los más contaminados, lo cual constituyó un indicador del impacto de los jales mineros.

Los estudios realizados por Qi y col. (2011) reportaron que en los suelos con pH superiores a 7 y potenciales de oxidación altos, disminuyó la solubilidad del

As (V). Por otra parte, Masscheleyn y col. (1991) encontraron que a pH=8 y en condiciones reductoras (0 a -200 mV), la especie dominante fue el As (III). Fitz y Wenzel (2002) también reportaron que esta especie prevalece en condiciones reductoras, en suelos inundados. Aunque en los suelos de este estudio los valores de potencial redox estuvieron en el rango de 0 mV a -200 mV y el pH>7, las condiciones de los mismos implica la ocurrencia de procesos de oxidación, lo que explica que la especie predominante sea el As (V). La presencia de esta especie en los suelos pobres en contenido de P, como el suelo A, favorece la absorción de As (V) en las plantas (García-Salgado, 2013).

# 6.4 Efecto del arsénico en la germinación y emergencia del frijol (*Phaseolus vulgaris*)

En el ensayo de germinación de las semillas de frijol se observó que a las 72 horas ya habían germinado el 93.33% del total de semillas, en ambos tratamientos (solución de arsénico (11 mgL<sup>-1</sup>) y el control de agua destilada). Para el cuarto día el porcentaje de germinación en ambos tratamientos fue de un 100 %. Esto se debe a la resistencia, adaptabilidad y tolerancia de esta variedad genéticamente modificada (INIFAP, 2009). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Moreno-Carranza (2016) en la misma variedad de frijol, sometido a concentraciones elevadas de cadmio y plomo.

El Cuadro 15 muestra las diferencias en el crecimiento de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. var. pinto saltillo) entre el tratamiento con agua destilada (control) y el de la solución de arsenato de sodio, que contenía 11 mgL<sup>-1</sup> de As, en la etapa de germinación de la semilla. Se observó un efecto de inhibición del crecimiento en raíz del tratamiento As (11 mgL<sup>-1</sup>) de un 77.06 % con respecto al control, mostrando diferencias significativas (p<0.05). La longitud de las plantas en el tratamiento con la solución de As fue menor en un 79.33 %, con diferencias significativas (p<0.05) con respecto al tratamiento con agua destilada. Cuando las plantas se someten a altas concentraciones de As se manifiesta un efecto inhibitorio

en su crecimiento producto del remplazo del As (V) por el fósforo (García–Salgado, 2013).

Cuadro 15 Efecto del arsénico en frijol (P. vulgaris)

Partes de la planta Phaseolus vulgaris	Longitud de las planta (cm) (N=30)	s Longitud de las raíz (cm) (N=30)
H <sub>2</sub> O (control)	14.32±5.03 <sup>a</sup>	8.37±3.01 <sup>a</sup>
As (11 mgL <sup>-1</sup> )	2.96±0.71 <sup>b</sup>	1.92±0.65 <sup>b</sup>

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

El valor calculado de RE en las plantas de frijol del tratamiento con As fue de -0.77 comparado con el control, lo cual indicó que la toxicidad del arsénico en las plántulas de frijol fue muy alta, según la escala planteada por Bagur-González y col. (2011). Los resultados obtenidos en la elongación de la radícula coinciden con los de Ixta-Velázquez y col. (2016), estos autores encontraron valores de entre -0.94 y -0.72, en diluciones de suelos de jales, donde es liberado el As y otros metales.

# 6.5 Parámetros morfofisiológicos de *Phaseolus vulgaris* en las Fase I y Fase II del crecimiento de las plantas.

Las variables fisiológicas fueron evaluadas en dos periodos del crecimiento de las plantas de frijol (*P. vulgaris*): Fase I (emergencia hasta floración) y Fase II (desarrollo del fruto hasta senescencia). En la Fase I de las plantas de frijol se evidenció diferencias desde la germinación. El primer par de hojas verdaderas de aquellos tratamientos que tenían suelo B aparecieron a los 6 DDS, mientras que en los que tenían el suelo A brotaron a los 7 DDS.

# 6.5.1 Peso fresco de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en las Fase I y Fase II del crecimiento.

En el Cuadro 16 se muestran los valores promedios del peso fresco en las Fase I y Fase II de las plantas de frijol (*P. vulgaris*). En cada fase hubo diferencias significativas entre los tratamientos (p<0.05), y los mayores valores correspondieron a aquellos que contenían el sustrato del material orgánico y suelo B (T5 y T6).

Cuadro 16 Peso fresco de las plantas de frijol en las dos fases de desarrollo

Tratamiantas	Peso fresco (g)			
Tratamientos	10 DDS (N=30)	92 DDS (N=10)		
T1	1.329±0.238°	1.56±0.40 <sup>cd</sup>		
T2	1.377±0.138°	0.66±0.22 <sup>d</sup>		
Т3	1.587±0.139 <sup>cb</sup>	3.89±2.23 <sup>bc</sup>		
T4	1.698±0.148 <sup>b</sup>	$2.32 \pm 0.97^{cd}$		
T5	2.173±0.280 <sup>a</sup>	6.12±2.57 <sup>b</sup>		
T6	2.444±0.294 <sup>a</sup>	11.08±2.93 <sup>a</sup>		

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

Por otra parte, el tratamiento T4 no mostró diferencias significativas con T3, en la Fase I (p=0.867) y en la Fase II (p=0.178), mientras que T1 y T2, presentaron los menores valores del peso fresco, sin mostrar diferencias significativas, en la Fase I (p=0.110) y en la Fase II (p=0.520). La diferencia en peso fresco entre los tratamientos homólogos (T2-T5 y T3-T6) en la Fase I fue de 36.41 % para el primero y de 34.84 % para el segundo, ambas fueron superior a la diferencia entre T4 y T1 (21.76 %). El peso fresco en la Fase II (Cuadro 16) presentó diferencias marcadas con los tratamientos que contenían el mismo suelo y aquellos homólogos de sustratos similares. Entre los tratamientos T4 y T1 la diferencia fue de 32.76 %, y aumentó para aquellos que tenían materia orgánica: T5 y T2 (89.22 %) y lodo residual: T6 y T3 (64.89 %). Las plantas de frijol de T6 presentaron los mayores valores de peso fresco en todos los tratamientos y entre aquellos del mismo suelo

la diferencia de T6 fue de 44.77 % con T5 y de 79.06 % con T4. Para los tratamientos que contenían suelo A la diferencia fue de 59.89 % entre T3 y T1 y de 83.03 % entre T3 y T2. En esta fase de desarrollo el uso de lodos residuales favoreció el peso fresco de las plantas más que el uso de composta.

# 6.5.2 Peso seco de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en las Fase I y Fase II del crecimiento

El Cuadro 17 muestra los resultados del peso seco en las plantas de frijol Fase I y II. A los 10 DDS, las plantas en la Fase I, no presentaron diferencias estadísticamente significativas (p=0.739) en los valores de peso seco entre los tratamientos. Los resultados obtenidos para la Fase I coinciden con lo reportado por Moreno-Carranza (2016). Este autor determinó peso seco de plantas de frijol de la misma variedad, en suelos contaminados con cadmio y plomo, y no encontró diferencias estadísticas significativas.

Cuadro 17 Peso seco de las plantas de frijol en las dos fases de desarrollo

Tratamientos	Peso seco (g)		
	10 DDS (N=30)	92 DDS (N=10)	
T1	0.20±0.08 <sup>a</sup>	0.32±0.05 <sup>b</sup>	
T2	0.21±0.05 <sup>a</sup>	0.37±0.08 <sup>b</sup>	
Т3	0.21±0.03 <sup>a</sup>	0.78±0.43 <sup>b</sup>	
T4 0.21±0.04 <sup>a</sup>		$0.52 \pm 0.22^{b}$	
T5	0.22±0.04 <sup>a</sup>	1.30±0.50 <sup>ab</sup>	
T6	0.22±0.04 <sup>a</sup>	2.46±0.67 <sup>a</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

En la Fase II se reportaron diferencias significativas (p<0.05) entre los valores de peso seco del tratamiento que tenía en el sustrato suelo B y lodo residual (T6) y su control (T4) (Cuadro 17). Sin embargo, el tratamiento T5, que contiene en el sustrato composta comercial, no mostró diferencias estadísticamente significativas (p=0.66) con el control (T4). El uso de lodo residual en este

tratamiento produjo un efecto de aumento de la biomasa de las plantas de frijol en esta fase comparado con el tratamiento control que contenía suelo B, resultando mejor que la aplicación de composta comercial. Los tratamientos que contenían suelo A no mostraron diferencias estadísticamente significativas (p=0.66) entre los tratamientos que contenían lodo o composta y el control.

El tratamiento T6, que contiene el sustrato SLB mostró diferencias significativas (p<0.05) con el tratamiento T3, con sustrato SLA. En la Fase II, la diferencia en las concentraciones de arsénico entre los suelos A y B, tuvo una mayor influencia en el peso seco de las plantas de frijol, que la aplicación de residuos orgánicos. Esto se debe que los niveles de As pueden inhibir la acumulación de biomasa (Finnegan y Chen, 2012).

Los resultados de peso seco coinciden con los obtenidos por Meers y col. (2007). Estos autores después de dos semanas de iniciado el bioensayo observaron cambios en la biomasa de plantas de frijol sometidas a estrés por metales pesados.

# 6.2.3 Longitud de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en las Fase I y Fase II del crecimiento.

Los resultados de la longitud de las plantas de frijol (*P. vulgaris*) se muestran en el Cuadro 18. A los 10 DDS con la aparición del primer par de hojas verdaderas en las plantas de frijol, se observaron diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos; donde aquellos que contenían los sustratos de suelo B con material orgánico, ya sea composta o lodo, presentaron los mayores valores.

En los tratamientos que contenían suelo B, se mostraron diferencias significativas (p<0.05) en la longitud de las plantas entre el T6 y el resto de los tratamientos. La diferencia fue de un 12.33 % entre T4 y T6 y de un 55.90 % entre T5 y T6. La diferencia entre T4 y T5 fue de un 5.70 %, entre los mismos no se mostraron diferencias significativas.

En los tratamientos que contenían suelo A, el T2 y el T1 no mostraron diferencias estadísticamente significativas (p=0.095), con una diferencia de 0.89 %. Sin embargo, estos tratamientos mostraron diferencias significativas (p<0.05) con el

T3 y la diferencia en porciento fue de 17.22 % entre T3 y T1 y de 16.48 % entre T3 y T2.

Cuadro 18 Longitud de la planta a los 10 y 92 DDS

Tratamientos	Longitud de la planta (cm)		
Tratamientos	10 DDS (N=30)	92 DDS (N=10)	
T1	13.41±3.06 <sup>d</sup>	28.18±2.06 <sup>de</sup>	
T2	13.53±3.20 <sup>d</sup>	22.74±5.71 <sup>e</sup>	
Т3	16.20±2.69 <sup>c</sup>	55.28±14.61 <sup>b</sup>	
T4	22.18±2.38 <sup>b</sup>	$40.82 \pm 5.66$ <sup>cd</sup>	
T5	23.52±3.77 <sup>ab</sup>	44.45±6.13b <sup>c</sup>	
T6	25.30±3.21 <sup>a</sup>	100.80±15.25 <sup>a</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

La longitud de las plantas a los 92 DDS mostraron diferencias significativas (p<0.05) más acentuadas que a los 10 DDS. En esta etapa de madurez fisiológica de la planta de frijol, la longitud de las plantas del tratamiento T6 sobrepasó en un 59.50 % al T4 y en un 55.90 % al T5. Para los tratamientos con el suelo A, el T3 presentó diferencias significativas con (p<0.05) con T1 y T2, siendo de 49.02 % y 58.87 %, respectivamente. La diferencia entre el tratamiento T6 y el T3 fue de 45.16 %, dada las condiciones similares que tuvieron las plantas en el invernadero, esta se asoció con la diferencia en las concentraciones de As que tenían los suelos.

El crecimiento de las plantas de frijol en el suelo B fue mayor al que experimentaron las plantas del suelo A. La diferencia en el contenido de arsénico entre los suelos, influyó en el metabolismo de las plantas de frijol y la disponibilidad de nutrientes en las mismas. Una de las formas de entrada del arsénico en la planta es como arseniato a través de la membrana plasmática de las raíces, este ion sustituye a los grupos fosfatos e inhibe el crecimiento de las plantas (García—Salgado, 2013; Fayiga y Saha, 2016).

El crecimiento de las plantas de frijol (*P. vulgaris* var. pinto saltillo) fue muy variable, aunque las mismas cumplieron con lo estipulado por el INIFAP (2009), que establece que estas plantas tienen habito de enredadera indeterminada. En general, el uso del lodo residual favoreció el crecimiento de las plantas de frijol más que el

uso de composta en ambos suelos. Sin embargo, los niveles más altos de As del suelo A tuvieron una influencia más acentuada en la longitud de estas plantas que en el suelo B.

# 6.2.4 Longitud de la parte aérea en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

La longitud de la parte aérea de las plantas de frijol se midió a los 10, 43 y 92 DDS (Cuadro 19). La medición a los 43 DDS se realizó en el lugar del experimento, cuando todavía las plantas de frijol se encontraban en las macetas. Los resultados obtenidos en la longitud del tallo de las plantas de frijol a los 10, 43 y 92 DDS mostraron diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos correspondientes a cada periodo.

Cuadro 19 Longitud de la parte aérea a los 10, 43 y 92 DDS

Tratamientos	Longitud del tallo (cm)			
	10 DDS (N=30)	43 DDS (N=10)	92 DDS (N=10)	
T1	9.72±2.01 <sup>d</sup>	22.07±2.68 <sup>c</sup>	23.24±2.08 <sup>cd</sup>	
T2	10.07±2.29 <sup>d</sup>	17.46±2.26 <sup>c</sup>	20.26±5.50 <sup>d</sup>	
Т3	12.44±1.92 <sup>c</sup>	37.92±7.43 <sup>b</sup>	45.79±12.36 <sup>b</sup>	
T4	17.07±1.79 <sup>b</sup>	36.74±10.63 <sup>b</sup>	$32.75 \pm 6.13^{bcd}$	
T5	19.51±3.19 <sup>a</sup>	39.70±12.58 <sup>b</sup>	35.15 ±6.89bc	
Т6	20.35±2.80 <sup>a</sup>	91.08±12.87 <sup>a</sup>	88.14± 13.46 <sup>a</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

A los 10 DDS los mayores valores de este parámetro se obtuvieron en los tres tratamientos que contenían el suelo B, siendo la diferencia con respecto a control (T4) de un 12.51 % para T5 y de un 16.12 % para T6. En aquellos que tenían como parte del sustrato suelo A la diferencia fue de un 3.48 % entre T1 y T2 y de un 21.87 % entre T1 y T3. En este periodo el uso de lodos y composta influyó de forma positiva en el crecimiento de la planta.

A los 43 DDS los tratamientos que tenían lodo residual presentaron los mayores valores de longitud de la parte aérea, mostrando diferencias significativas (p<0.05) con aquellos que con el mismo suelo, tenían diferentes sustratos. Para el T3 la diferencia fue de un 41.80 % con respecto al T1, mientras que para el T6 fue de un 59.66 % con respecto al T4. En la floración el tratamiento T6 presentó un crecimiento de un 77.66 % en relación a la germinación (10 DDS), siendo el tratamiento en el cual las plantas crecieron más hasta los 43 DDS.

A los 92 DDS los resultados de la longitud de la parte aérea presentaron diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos, y las plantas siguieron el mismo comportamiento que a los 43 DDS. La diferencia entre T1 y T3 fue de un 48.91 % y entre T6 y T4 fue de un 62.84 %. Los valores promedios de este parámetro para los tratamientos del suelo B disminuyeron en comparación con los reportados a los 43 DDS. Esto se relacionó con el hábito de enredadera indefinida y enrollamiento que muestran las plantas de frijol según plantea INIFAP (2009).

### 6.2.5 Longitud de la raíz en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*)

En la medición de la longitud de la raíz en las plantas de frijol se presentaron diferencias significativas (p<0.05), en las dos fases de crecimientos de las plantas (Cuadro 20). A los 10 DDS, los tratamientos que tenían suelo B mostraron valores superiores a aquellos que tenían suelo A. En ambos suelos de longitud de la raíz los tratamientos que tenían composta en el sustrato presentaron valores promedios menores que el resto.

A los 92 DDS los tratamientos T3, T4, T5 y T6 presentaron los mayores valores de longitud de la raíz y no hubo diferencias significativas entre los mismos (p=0.051). Las diferencias entre tratamientos homólogos fueron de 38.79 % (T4-T1), 73.33 % (T5-T2) y 25.04 % (T6-T3), la mayor fue entre los tratamientos que contenían sustratos de composta. El T2 presentó en esta fase una menor longitud de raíz que en la Fase I, porque algunas de las plantas de este tratamiento en este periodo se encontraban secas.

Cuadro 20 Longitud de la raíz a los 10 y 92 DDS

Tratamientes	Longitud de la raíz (cm)		
Tratamientos	10 DDS (N=30)	92 DDS (N=10)	
T1	3.69±2.01 <sup>bc</sup>	4.94±1.42 <sup>bc</sup>	
T2	3.46±1.72°	2.48±1.06 <sup>c</sup>	
T3	3.76±1.60 <sup>bc</sup>	9.49±3.13 <sup>ab</sup>	
T4	5.11±1.76 <sup>a</sup>	$8.07 \pm 2.38^{ab}$	
T5	4.01±1.36 <sup>abc</sup>	9.30±2.19 <sup>ab</sup>	
T6	4.95±1.85 <sup>ab</sup>	12.66±5.79 <sup>a</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

La diferencia que se obtuvo en el crecimiento de la raíz entre el día 10 DDS y el día 92 DDS, fue de 25.30 % para T1, 60.38 % para T3, 36.66 % para T4, 56.88 % para T5 y 60.86 % para el T6. En el caso del T2 disminuyó la longitud de la raíz en la Fase II en un 39.52 % con respecto a la Fase I. Los tratamientos que contenían lodo residual experimentaron un crecimiento radical superior al del resto de los tratamientos.

En general, se observaron diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre los parámetros de crecimiento de los tratamientos que tenía lodo residual y composta y aquellos que solo tenían suelo. Dado que, la aplicación de biosólidos provee de nutrientes en forma de nitrógeno, fósforo y potasio. También incrementa el contenido de materia orgánica y mejora algunas propiedades físicas del suelo como la retención de agua (Clarke y col., 2017). Por otra parte, Strawn y col. (2016) plantearon que la aplicación de desechos orgánicos aumenta la biodisponibilidad del fósforo en los suelos calcáreos. Esto contribuyó al crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol (*P. vulgaris*).

Kumar y Chopra (2014) en estudios realizados con diferentes concentraciones de lodo residual (20, 40, 60, 80 y 100) %, encontraron los mejores índices de crecimiento de la planta *P. vulgaris* (var. Annapurna) en el tratamiento que contenía 40 % de lodo residual en comparación con el control.

### 6.2.6 Número de flores por tratamiento durante la floración de Phaseolus vulgaris

A los 43 DDS sólo las plantas que se desarrollaron en el suelo o sustratos que contenían suelo B, se encontraban en la etapa de floración (Figura 2). El T4 presentó el menor número de flores en este sustrato con 37 flores en total y un promedio de  $1.23 \pm 1.04$  de flores por planta. El T5 presentó un número total de flores de 130 con un promedio de  $4.33 \pm 2.97$  flores por planta y el T6 tenía 169 flores, en promedio  $5.63 \pm 1.78$  por planta.

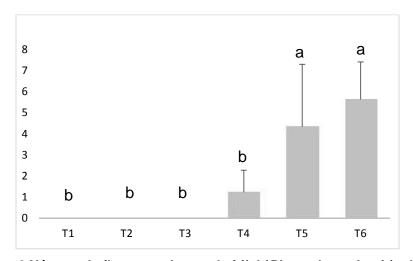


Figura 2 Número de flores en plantas de frijol (Phaseolus vulgaris) a los 43 DDS.

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05).

Los tratamientos T1 y T3, que contenían el suelo A, comenzaron esta estapa a los 50 DDS y 52 DDS, respectivamente. El número de flores fue menor que en los homólogos que contenían suelo B. El T1 tenía 5 flores con un promedio de  $0.17 \pm 0.24$ , mientras que en el T6 habían 11 flores en promedio  $0.37 \pm 0.51$  por planta. En el T2 no hubo aparición de flores, en este tratamiento se manifestó en esta etapa síntomas marcados de clorosis foliar.

En general, las plantas florecieron en periodo entre los 38 y 60 DDS, según establece el INIFAP (2009) para esta variedad de frijol. Sin embargo, las diferencias

en cuanto a los dias de floración y el número de flores según el sustrato empleado, se relacionó con la concentración de arsénico en los suelos y el empleo de enmiendas orgánicas. Finnegan y Chen (2012) indicaron que los niveles altos de arsénicos comprometen la capacidad reproductiva de las plantas a través de la pérdida de fertilidad, rendimiento y producción de frutos.

#### 6.2.7 Peso del grano de frijol (*Phaseolus vulgaris*)

En el Cuadro 21 se muestran los resultados del peso promedio de las vainas llenas y de los granos de frijol, en aquellos tratamientos que llegaron a la producción biológica del fruto. Las plantas de frijol de T1 y T2 mostraron inhibición del crecimiento, lo cual influyó en el desarrollo por etapas de las mismas. Además presentaron síntomas de clorosis foliar, en especial en el T2 que a los 92 DDS las plantas se encontraban secas.

Cuadro 21 Peso de la vaina llena y del grano en el frijol

Tratamientos	Peso vaina con frijol (g)	Peso frijol (g)	
T1	NP	NP	
T2	NP	NP	
T3	$0.087 \pm 0.030^{\circ}$	0.071±0.064°	
T4	0.613±0.176 <sup>b</sup>	0.472±0.143 <sup>b</sup>	
T5	0.651±0.22 <sup>b</sup>	0.484±0.183 <sup>b</sup>	
T6	0.879±0.287 <sup>a</sup>	0.710±0.252 <sup>a</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05). NP: No presentó vainas o granos a los 92 DDS.

Los tratamientos que tenían como sustrato suelo B tuvieron los mejores resultados en cuanto a llenado de vainas y peso promedio de cada grano de frijol, en los mismos se aprecian diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos T4 y T5 con el T6. Este último presentó los mayores valores en estos dos parámetros evaluados. En el llenado de vainas el T4 tuvo un 17.02 % de frijol no viables (que se encontraban momificados dentro de la vaina) y un 82.98 % de frijol

viable. En el caso del T5 se encontró un 7.63 % de frijol no viable para un 92.37 % de frijol viable y el T6 tuvo un 3.23 % de frijol no viable para un 96.77 % de frijol viable. El tratamiento T3, que contenía suelo A, presentó el menor valor promedio en el peso de la vaina con frijol mostrando diferencias significativas (p<0.05) con el resto de los tratamientos. Además el número de frijoles viables fue muy inferior a los de los tratamientos T4, T5 y T6 con solo un 33.33 % de frijol viable para un 66.67 % de frijol no viable.

El INIFAP (2009) estableció que la variedad de frijol pinto saltillo tiene un tamaño mediano, con un intervalo de peso entre los 30 y 34 g por cada 100 semillas, equivalente de 0.30 y 0.34 g por cada grano de frijol. El T3 presentó los menores valores en peso del grano, mostrando diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) con el resto de los tratamientos y los granos fueron un 76.67 % menores a límite inferior que se estableció para esta variedad. Sin embargo, los tratamientos T4, T5 y T6 mostraron valores superiores en un 27.66 %, 29.75 % y 52.11 %, respectivamente, con respecto al límite superior de peso del grano en el pinto saltillo. El peso promedio de los granos del T6 fue superior al de los otros tratamientos, presentando diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). Entre el tratamiento T4 y T5 no hubo diferencias significativas (p=0.988), lo cual indicó que el uso de la composta comercial no tuvo influencia en el desarrollo del fruto en el frijol variedad pinto saltillo. Sin embargo, el uso del lodo residual mostró un efecto positivo en la fructificación de las plantas de frijol de este experimento, tanto en el suelo A como en el suelo B.

# 6.3 Relación de algunos pigmentos fotosintéticos con la contaminación por As en los suelos y el uso de lodos.

Las concentraciones de clorofila a, clorofila b y carotenoides a los 82 DDS, en las hojas de las plantas de frijol (*P. vulgaris*) se muestran en el Cuadro 22. Las plantas de frijol del tratamiento T2, experimentaron antes de los 82 DDS síntomas

de clorosis foliar muy marcados, y al momento de realizar la determinación de clorofilas y carotenoides este tratamiento estaba totalmente seco.

Cuadro 22 Clorofila a, b y carotenoides totales a los 82 DDS, Fase II del crecimiento de las plantas de *Phaseolus vulgaris* 

Tratamientos	Clorofila a (µgmL <sup>-1</sup> )	Clorofila b (µgmL <sup>-1</sup> )	Carotenoides (µgmL <sup>-1</sup> )	Relación Cla / Clb
T1	0.49±0.09a	0.25±0.07 a	53.91±10.42b	1.94±0.14 <sup>a</sup>
T2	ND	ND	ND	ND
T3	1.11±0.69 <sup>a</sup>	0.48±0.30 <sup>a</sup>	97.80±56.50 <sup>ab</sup>	2.32±0.03 <sup>a</sup>
T4	0.80±0.07a	0.36±0.04a	80.52±11.14 <sup>ab</sup>	2.21±0.05 <sup>a</sup>
T5	1.07±0.02a	0.39±0.11a	116.47±13.50ab	2.95±1.01 <sup>a</sup>
T6	1.42±0.48 <sup>a</sup>	0.65±0.22a	155.74±54.47 <sup>a</sup>	2.20±0.02 <sup>a</sup>

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05). ND: No se determinó, este tratamiento se secó antes de los 82 DDS. Los resultados se refieren a los valores promedios de 3 réplicas.

Los contenidos de Cla y Clb en los tratamientos evaluados, no mostraron diferencias estadísticamente significativas con un nivel de significancia de p=0.73 y p=0.115, respectivamente. Sin embargo, las concentraciones de ambos pigmentos en el T1 fueron inferiores al resto de los tratamientos, en correspondencia con la clorosis foliar que manifestaron las plantas de este tratamiento en el momento de la evaluación. La diferencia entre el T1 y su homólogo el T4 fue de un 38.75 % para la clorofila a y de un 30.56 % para la clorofila b. También los resultados en los tratamientos que contenían materia orgánica y suelo B, fueron superiores a los obtenidos para el que sólo contenía suelo. Para el contenido de clorofila a, la diferencia fue de un 25.23 % entre T4 y T5 y de un 43.66 % entre T4 y T6. En el caso de la clorofila b, las diferencias fueron de 7.69 % y de 44.62 % entre T4 y T5 y entre T4 y T6, respectivamente.

Los contenidos de carotenoides en las plantas de frijol (Cuadro 22) presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T1 y T6. Este último mostró el valor más alto en la concentración de carotenoides en comparación con el resto de los tratamientos.

La relación entre Cla/Clb constituye un marcador de contaminación en las plantas (Sumanta y col., 2014). En los tratamientos de este estudio, la relación no mostró diferencias estadísticamente significativas (p=0.128). Esto indicó que la diferencia en las concentraciones de As en el suelo y la aplicación de materia orgánica, no influyó en la relación Cla/Clb. Kumar y Chopra (2014) tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas con la aplicación de lodos en la relación Cla/Clb.

En los suelos A y B, las concentraciones de nitrógeno fueron bajas, lo cual influye en los síntomas marcados de clorosis foliar encontrados en algunos tratamientos. Sin embargo, las plantas de frijol enriquecen con nitrógeno al suelo, fijando entre 30 y 50 kg N/ha/año (Weil y Brady, 2016). Además, el empleo de composta favorece el aumento de la concentración de este elemento. De modo que el bajo contenido de nitrógeno, no fue el único factor que contribuyó a la clorosis reflejada en algunos tratamientos (T2 y T1).

## 6.4 Concentración de arsénico en parte aérea, raíz, grano de la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Los resultados de la acumulación de arsénico en las partes de las plantas de frijol se observan en el Cuadro 23. El contenido de arsénico en las raíces mostró diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre todos los tratamientos, siendo los tratamientos que contienen el suelo A los que muestran los mayores valores. Dentro de los tratamientos que contenían el suelo en común el orden en acumulación de este metaloide varió en dependencia del sustrato. Para aquellos que tenían suelo A el orden fue de T1>T3>T2, mientras que para el suelo B este fue de T6≥T4>T5. En ambos casos los tratamientos de los sustratos que tienen composta fueron quienes menos acumularon As en la raíz. Sin embargo, aunque se presentaron diferencias significativas (p<0.05) en los valores promedios de las partes aéreas de todos los tratamientos, el orden de acumulación de As fue diferente al de la raíz. Este fue para el suelo A de T2>T1>T3 y para el suelo B fue de T6>T4>T5. Los tratamientos a los que les fue evaluado el contenido de arsénico en

el grano de frijol mostraron diferencias significativas (p<0.05), en orden T5>T6>T4 para los que tenían suelo B. Los valores de contenido de As de T3 y T4 no mostraron diferencias significativas (p=0.97). Resultados similares obtuvieron Francisco-Atencio y col. (2011), pues la aplicación de lodos aumentó la concentración de As en la parte foliar de 0.084 mgkg<sup>-1</sup> (suelo testigo) a 0.91 mgkg<sup>-1</sup>, en el suelo con lodo, en plantas de maíz.

Cuadro 23 Contenido de arsénico en parte aérea, raíz y granos de las plantas de frijol (*P. vulgaris*) evaluados a los 92 DDS

	Concentración de As (mgkg <sup>-1</sup> )			
Tratamientos	Raíz	Parte aérea	Granos	
T1	949.61±0.03ª	102.50±0.004°	NP	
T2	553.70±0.005°	274.02±0.007 <sup>a</sup>	NP	
Т3	748.42 ±0.011 <sup>b</sup>	95.43 ±0.003 <sup>d</sup>	0.065±0.0006°	
T4	89.77±0.003 <sup>d</sup>	31.45 ±0.001 <sup>e</sup>	0.061±0.001°	
T5	58.98 ±0.0008 <sup>e</sup>	17.58±0.0008 <sup>f</sup>	3.85 ±0.001 <sup>a</sup>	
Т6	90.87±0.0005 <sup>d</sup>	125.51±0.001 <sup>b</sup>	0.20±0.001 <sup>b</sup>	

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa según prueba de comparación de medias Tukey (p<0.05). NP: No presentó granos a los 92 DDS.

Los resultados se refieren a la medición de tres réplicas

En el suelo menos contaminado, la translocación de As de la raíz hacia la parte aérea varió en dependencia del tratamiento, siendo mayor para las plantas del sustrato suelo: composta (T2) con valor de 0.49. Para los tratamientos T1 y T3 esta fue de 0.11 y 0.13, respectivamente. En el caso de los tratamientos que tenían suelo B, el T6 acumuló más de este metaloide (1.38) comparado con T4 (0.35) y T5 (0.30).

El tratamiento T5 presentó las menores concentraciones de As en raíz y parte aérea en relación al resto de los tratamientos. Sin embargo, este tratamiento presentó valores de As en grano de 3.85 mgkg<sup>-1</sup>, con un FT de As de la parte aérea al fruto de 0.22, siendo mayor que en el resto de los tratamientos. La variación que se muestra en cuanto a la translocación de As de la raíz hacía otras partes de las plantas se debe a que estos iones pueden ser almacenados, exudados al medio

externo o translocados a la parte aérea de la planta mediante el xilema (García-Salgado, 2013). Las condiciones del suelo influyen en la especiación del As y el movimiento de este de la raíz hacia parte superiores de las plantas. Las formas orgánicas del As tienen menor afinidad por los transportadores hacia la planta que las formas inorgánicas. Sin embargo, las especies de arsénico orgánico se transportan más eficientemente hacia el brote que las formas inorgánicas, debido a que no forman complejos con fitoquelatinas y polímeros de glutatión rico en sulfhidrilos (Finnegan y Chen, 2012, Punshon y col., 2017). Sadee y col. (2016) reportaron que el 68 % del As total en las plantas de habas (Vicia faba L.) se encontró en las formas de DMA y MMA, para un suelo que contenía un 90 % de As inorgánico.

En los suelos estudiados, la aplicación de lodos y composta disminuyó la absorción por la raíz del As en las plantas que crecieron en el suelo más contaminado, no siendo así para el suelo que tenía una menor concentración de este metaloide. Sin embargo, no hubo un orden en la translocación de este elemento en el resto de las partes evaluadas. Según Bolan y col. (2014), algunas enmiendas orgánicas pueden contener ligandos que incrementen la movilidad del As. También la movilidad de este elemento se relaciona con las propiedades edáficas, condiciones ambientales y las modificaciones del suelo en la rizósfera de cada tratamiento en cuestión, ya que la biodisponibilidad de arsénico en las plantas depende de estos factores (Zhao y col., 2010, Bolan y col., 2014). En este trabajo las propiedades edáficas y las modificaciones del suelo en la rizósfera tuvieron una mayor incidencia. Las plantas que crecieron en los suelos y sustratos de mayor concentración de arsénico mostraron inhibición en su crecimiento y desarrollo, en comparación con aquellas que se desarrollaron en el suelo con menor contenido de As. Por otra parte, las plantas que crecieron en sustratos que contenía lodo residual tuvieron un mejor desarrollo que el resto de los tratamientos.

Las concentraciones de As encontrados en granos de frijol fueron mayores a los reportados por Shaheen y col. (2016) y Jiang y col. (2016). Los primeros reportaron un valor de 0.018 ± 0.007 mgkg<sup>-1</sup> en peso fresco de frijol en Bangladesh,

la India. Los segundos encontraron un rango de 0.002 mgkg<sup>-1</sup> a 0.016 mgkg<sup>-1</sup> de As en frijol (*P. vulgaris* var. vigna sinensis), en una localidad con industrias rurales, que se exponen a niveles altos de arsénico. A pesar de ello, estas concentraciones fueron menores a 34.5 mgkg<sup>-1</sup> y 41.0 mgkg<sup>-1</sup>, que son las dosis letales medias para el As (III) y el As (V), respectivamente (Koesmawati y Arifin, 2015).

# 6.5 Índice de Bioacumulación de arsénico en plantas de frijol (Phaseolus vulgaris).

En el Cuadro 24 se presenta el índice de bioacumulación (IB) de arsénico en raíz, parte aérea y grano de las plantas de frijol de cada tratamiento. Se observó una disminución del mismo en orden: raíz> parte aérea> granos.

Cuadro 24 Índice de bioacumulación de arsénico en raíz, parte aérea y grano de frijol (P. vulgaris).

Tratamientos	Raíz	Parte aérea	Granos
T1	0.105	0.011	NP
T2	0.061	0.030	NP
Т3	0.083	0.011	0.000007
T4	0.109	0.038	0.000074
T5	0.071	0.021	0.004655
T6	0.110	0.152	0.000243

Tratamientos: T1 (Suelo A): suelo ubicado a 0.10 km del jal minero, T2 (SAMO): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y composta, T3 (SLA): sustrato de suelo ubicado a 0.10 km y lodos, T4 (Suelo B): suelo ubicado a 1.8 km del jal minero, T5 (SBMO): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y composta, T6 (SLB): sustrato de suelo ubicado a 1.8 km y lodos. NP: No presentó granos a los 92 DDS.

En los tratamientos T2 y T3 se reportaron menores valores de IB de As en la raíz, que el tratamiento T1. Sin embargo, el As se bioacumuló más en la parte aérea del T3 en comparación con T1 y T2. En los tratamientos del suelo B, el T5 bioacumuló menos As en la parte aérea y la raíz, mientras que el T6 presentó los mayores valores de IB de As en parte aérea. En los granos el IB de As siguió el orden de T5>T6>T4.

La formación de complejos de la materia orgánica con el arsénico en los tratamientos que contenían lodos residuales o composta posibilitó la formación de complejos en el suelo y con ello disminuyó la entrada de este metaloide en la planta. Sin embargo, la aplicación de estas enmiendas orgánicas modificó las propiedades químicas y físicas de los sustratos en relación a los suelos, y posibilitó la movilidad de especies orgánicas del As desde la raíz hacia la parte aérea y granos de las plantas de frijol.

Los resultados del orden de bioacumulación de arsénico en las plantas de frijol de este estudio dieron similar a los reportados por Chakraborty (2015), en plantas de lechuga de agua, este encontró un orden de raíz >tallos>hojas en estas plantas. Aunque los valores fueron inferiores a los encontrados por Rico-Rodríguez (2012) en garbanzos. Esto se relacionó con los niveles de As en suelo que reportó este autor, lo cuales fueron inferiores a los mostrados en este estudio.

#### 7. CONCLUSIONES

El lodo residual obtenido de la planta de tratamiento de aguas residuales, estimuló el crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* var. pinto saltillo) en aquellos tratamientos que lo contenían, con respecto al control.

Los contenidos de arsénico en los suelos ubicados a 0.10 km y 1.80 km de un jal minero, fueron superior al límite máximo permisible para suelos agrícolas en un 99.76 % y un 97.34 %, respectivamente, los mismos no resultan aptos para las labores agrícolas.

La interacción del lodo residual con las características físicas y químicas de los suelos determinó la entrada de arsénico en las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

La absorción de arsénico en raíz y la translocación a la parte aérea de las plantas de frijol, disminuyó en el tratamiento con el sustrato lodo: suelo a 0.10 km del jal minero en un 21.19 % y un 6.90 %, respectivamente. Sin embargo, la movilidad de este metaloide hacia parte aérea y granos en frijol, aumentó en el tratamiento con sustrato lodo: suelo 1.8 km en un 74.94 % y un 69.50 %, respectivamente, con respecto al control. El índice de bioacumulación de arsénico varió en el orden: raíz > parte aérea > granos.

#### **REFERENCIAS**

- Acosta-Gallegos, J. A, Ibarra-Pérez, F. J, Navarrete-Maya, R., Sánchez-García, B. M., Jiménez-Hernández, Y., Mendoza Hernández, F. M., 2013, Relación entre la reacción al tizón común y el rendimiento y peso de la semilla de frijol en riego y temporal, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(5): 673-685.
- Agencia Informativa Conacyt, 2017, Zimapán, el peligro de ingerir arsénico en un trago de agua, Agencia Informativa Conacyt, Ciudad de México, 19 de octubre de 2017.
- Alonso-Santos M., Ignacio-Quinteiro M. F, Rozados-Lorenzo M. J., Fontúrbel-Lliteras M.T., Silva-Pando F. J., 2008, Potencial redox de la fase liquida del suelo y niveles de clareo en una población natural de *Quercus robur* en Galicia (no España), *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 25: 55-59.
- Alveranga P., Mourinha C., Farto M., Santos T., Palma P., Sengo J., Morais M.C., Cunha-Queda C., 2015, Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors, *Waste Management*, 40: 44-52.
- Alveranga P., Mourinha C., Farto M., Santos T., Palma P., Sengo J., Morais M.C., Cunha-Queda C., 2015, Erratum to "Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors" [Waste Manage. 40 (3) (2015) 44–52]. Waste Management, 44: 227.
- Alveranga P., Palma P., Mourinha C., Farto M., Dôres J., Patanita M., Cunha-Queda C., Natal-da-Luz T., Renaud M., Sousa J.P., 2017, Recycling organic wastes to agricultural land as a way to improve its quality: A field study to evaluate benefits and risks, *Waste Management*, 61:582-592.
- Bagur-González M. G., Estepa-Molina C., Martín-Peinado F., Morales-Ruano S., 2011, Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil

- extracts from an abandoned mining site, *Journal of Soils and Sediments*, 11:281–289.
- Baudi S., 2006, Química de los Alimentos, Pearson Educación de México, cuarta edición, México, 2006. ISBN: 970-26-0670-5.
- Bolan N., Kunhikrishnan A., Thangarajan R., Kumpiene J., Park J., Makino T., Kirkham M. B., Scheckel K., 2014, Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils To mobilize or to immobilize?, *Journal of Hazardous Materials*, 266:141–166.
- Castrejón A., Barrios J. A., Jiménez B., Maya C., Rodríguez A. C., González A., 2000, Evaluación de la calidad de lodos residuales de México, Instituto de Ingeniería, Grupo de Tratamiento y Reúso, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 1-14.
  <a href="http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsaidis/mexico13/061.pdf">http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsaidis/mexico13/061.pdf</a> Consultado [15 de junio de 2018].
- Chakraborty S., 2015, Environmental sustainability in wastewater treatment by phytoremediation Withpistia Stratiotes L. (Water Lettuce) in East Kolkata Wetland, *International Journal of Bio-resource, Environment and Agricultural Sciences (IJBEAS)*, 1, 4:132-139.
- Clarke R., Peyton D., Healy M. G., Fenton O., Cummins E., 2017, A quantitative microbial risk assessment model for total coliforms and E. coli in surface runoff following application of biosolids to grassland, *Environmental Pollution* 224:739-750
- Cohen, S. M., Chowdhury, A., Arnold, L.L., 2016, Inorganic arsenic: A non genotoxic carcinogen, *Journal of environmental sciences*, 49:28-37.
- Collard M., Teychené B., Lemée L., 2017, Comparison of three different wastewater sludge and their respective drying processes: Solar, thermal and reed beds Impact on organic matter characteristics, *Journal of Environmental Management*, 203 (2): 760-767.
- CONAGUA, 2012. Generación de lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales, del periodo 2006 a 2011. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento. Comisión Nacional del Agua. 21 de Mayo

- de 2012 mediante oficio No.BOO.03.01.05.-0027. En respuesta al oficio OFICIO/DGCENICA/199/2012. [Consulta: 1 de marzo de 2016].
- Corona-Chávez, P., Maldonado, R., Ramos-Arroyo, Y.R., Robles-Camacho, J., Lozano-SantaCruz, R., Martínez-Medina, M., 2017, Geoquímica y mineralogía de los jales del distrito minero Tlalpujahua-El Oro, México, y sus implicaciones de impacto ambiental, *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 34, 3: 250-273.
- Cubadda F., Jackson B. P., Cottingham K. L., Van Horne Y. O., Kurzius-Spencer M., 2017, Human exposure to dietary inorganic arsenic and other arsenic species: State of knowledge, gaps and uncertainties, *Science of the Total Environment*, 579: 1228–1239.
- Delgadillo-López A. E., González-Ramírez C. A., Prieto-García F., Villagómez-Ibarra J. R., Acevedo-Sandoval O., 2011, Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación, Tropical and subtropical agroecosytems, 14, 2: 597-612.
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio de Conservación de Recursos Naturales, 2014, Claves para la Taxonomía de Suelos, Décima segunda Edición.
- Dickinson B., 1998, Difco Manual, 11 edition, Difco Laboratories, Division of Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland 21152, USA: 70-71.
- FAO, 2009, Guía para la descripción de los suelos, Cuarta Edición, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.
- FAO, 2013, Manual de compostaje del agricultor experiencias en América Latina, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Oficina Regional para América Latina y el Caribe Santiago de Chile.
- FAOSTAT, 2014, Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO).

  <a href="http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC">http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC</a>
- FAO, 2018, El Manejo de Suelos Calcáreos, Portal de Suelos de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). <a href="http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/manejo-de-suelos-problematicos/suelos-calcareos/es/">http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/manejo-de-suelos-problematicos/suelos-calcareos/es/</a> [consultado 25 de septiembre de 2018].

- Fayiga A.O., Saha U.K., 2016, Arsenic hyperaccumulating fern: Implications for remediation of arsenic contaminated soils, *Geoderma*, 284: 132–143.
- Finnegan P.M., Chen W., 2012, Arsenic toxicity: the effects on plants metabolism, Review article, *Frontiers in Physiology/Plant Physiology*, 3: 1-18.
- Fitz W. J., Wenzel W. W., 2002, Arsenic transformations in the soil rhizosphere plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation, *Journal of Biotechnology*, 99: 259-278.
- Francisco-Atencio J., Ramos-Matías P., Aguirre-Yato G., 2011, Aprovechamiento agrícola del lodo generado en la PTAR de Puente Piedra Lima, *Revista de la Sociedad Química de Perú*, 77, 1: 75 85.
- Friedlová 2010, The Influence of Heavy Metals on Soil Biological and Chemical Properties, *Soil and Water Research*, 5, 1: 21–27.
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), 2016, Frijol, Panorama agroalimentario, Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial.
- García-Carmona M., Martín Peinado F.J., Romero-Freire A., Sierra Arag M., F.J. Martínez Garz,, 2017, Evaluation of remediation techniques in soils affected by residual contamination with heavy metals and arsenic, *Journal of Environmental Management*, 191: 228 236.
- García- Salgado S., 2013, Estudios de especiación de arsénico y acumulación de metales en muestras de interés medioambiental, Tesis doctoral, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Obras Públicas, Universidad Politécnica de Madrid, España: 100-265.
- Gilsanz J. C., Leoni C., Schelotto F., Acuña A., 2013, Uso potencial de los lodos urbanos en la producción agrícola, *Agrociencia Uruguay*, 17, 2:1-10.
- González-Flores, E., Tornero-Campante, M. A., Sandoval-Castro, E., Pérez-Magaña, A., Gordillo-Martínez, A. J., 2011, Biodisponibilidad y fraccionamiento de metales pesados en suelos agrícolas enmendados con biosólidos de origen municipal, *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 27 (4): 291-301.
- Guo, W. Q., Yang, S. S., Xiang, W. S., Wang, X. J., & Ren, N. Q., 2013, Minimization of excess sludge production by in-situ activated sludge treatment

- processes—A comprehensive review, *Biotechnology advances*, 31(8): 1386-1396.
- Gutiérrez-Ruiz M., Romero F. M., González-Hernández G., 2007, Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara Chihuahua, México, *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 24, 2: 170-184.
- Hernández-Acosta E., Mondragón-Romero E., Cristobal-Acevedo D., Rubiños-Panta J. E., Robledo-Santoyo E., 2009, Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México, *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente,* 15 (2): 109-114.
- Hernández-del Valle, G., Hernández-González, O., Guridi-Izquierdo, F, Arbelo-Forte, N., 2012, Influencia de la siembra directa y las aplicaciones foliares de extracto líquido de vermicompost en el crecimiento y rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 21 (2): 86 90.
- Herrera-Arias F. C., Santos-Buelga J. A., 2005, Prevalencia de *Salmonella* spp. en pescado fresco expendido en Pamplona (Norte de Santander), *Bistua:* Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, 3 (2): 34-42. ISSN: 0120-4211.
- Hu B., Li G., Li J., Bi J., Zhao J., Bu R., 2013, Spatial distribution and ecotoxicological risk assessment of heavy metals in surface sediments of the southern Bohai Bay, China, *Environmental Science and Pollution* Research, 20: 4099–4110.
- Huiliñir C., Villegas M., 2015, Simultaneous effect of initial moisture content and airflow rate on biodrying of sewage sludge, *Water Research*, 82: 118-128.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), 2001, Pinto saltillo: nueva variedad de frijol para el sureste del estado de Coahuila, Centro de Investigación Regional del Noreste, Campo Experimental "Saltillo", Blvd. Vito Alessio Robles, No. 2565, Colonia Nazario S. Ortiz Garza, Saltillo, 25100, Coahuila, México: 1.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), 2009, Pinto saltillo: variedad mejorada de frijol para el estado de Durango,

- Centro de Investigaciones regional Norte Centro, campo Experimental "Valle del Guadiana", Progreso 5, Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, C.P. 04010, estado de México, México: 1-29. ISBN: 978-607-425-134-0.
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático de los residuos (INECC), 2012, Diagnóstico básico para la gestión integral. Versión ejecutiva: 21 25.
- IUSS Grupo de Trabajo WRB, 2007, Base Referencial Mundial del Recurso Suelo, Primera actualización 2007, Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103, FAO, Roma.
- Ixta-Velázquez D., Cruz-Jiménez G., Sánchez-Sánchez C.K., 2016, Evaluación de la fitotoxicidad de jales mineros de Xichú en frijol, maíz y sorgo, Jóvenes en la Ciencia, 2 (1): 1561-1565.
- Ji Y., Wu P., Zhang J., Zhou Y., Peng Y., Zhang S., Cai G., Gao G., 2018, Heavy metal accumulation, risk assessment and integrated biomarker responses of local vegetables: A case study along the Le'an river, Chemosphere, 199, 361-371
- Jiang Y., Zeng X., Fan X., Chao S., Cao H., Zhu M., 2015, Levels of arsenic pollution in daily foodstuffs and soils and its associated human health risk in a town in Jiangsu Province, China, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122: 198-204.
- Kalinina O., Barmin A.N., Chertov O., Dolgikh A.V., Goryachkin S.V., Lyuri D.I., Giani L., 2014, Self-restoration of post-agrogenic soils of Calcisol–Solonetz complex: Soil development, carbon stock dynamics of carbon pools, Geoderma, 237–238:117–128.
- Koesmawati T. A., Arifin Z., 2015, Mercury and arsenic content in seafood samples from the Jakarta Fishing Port, Indonesia, *Marine Research in Indonesia*, 40, 1: 9–16.
- Komárek M., Van k A., Ettler V., 2013, Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides e A review, *Environmental Pollution*,172: 9-22.
- Kulikowska D., 2016, Kinetics of organic matter removal and humification progress during sewage sludge composting, *Waste Management*, 49:196-203.

- Kumar V., Chopra A. K., 2014, Accumulation and translocation of metals in soil and different parts of French Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) amended with sewage sludge, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92 (1): 103-108.
- Legates D. R., Mahmood R., Levia D.F., DeLiberty T. L., Quiring S. M, Houser C., Nelson F. E., 2010, Soil moisture: A central and unifying theme in physical geography, *Progress in Physical Geography*, publicada en línea 29 de noviembre 2010: 1-22 DOI: 10.1177/0309133310386514 <a href="http://ppg.sagepub.com/content/early/2010/11/27/0309133310386514">http://ppg.sagepub.com/content/early/2010/11/27/0309133310386514</a>
- Lisetskii F., Stolba V.F, Marinin O., 2015, Indicators of agricultural soil genesis under varying conditions of land use, Steppe Crimea, *Geoderma*, 239–240: 304–316.
- Luna-Zendejas H. S., López-Wong W., Solís-Oba, M., Vera A., 2011, Effect of compost made with sludge from wastewater treatment plants on field of corn (*Zea mays* L.) and arbuscular mycorrhizal fungi density, *African Journal of Agricultural Research*, 6(5): 1233-1240.
- Masscheleyn P.H., Delaune R. D., Patrick W. H., Jr., 1991, Effect of Redox Potential and pH on Arsenic Speciation and Solubility in a Contaminated Soil, *Environmental Science and Technology*, 25: 1414-1419.
- Mao X., Han F. X., Shao X., Guo K., McComb J., Arslan Z., Zhang Z., 2016, Electro-kinetic remediation coupled with phytoremediation to remove lead, arsenic and cesium from contaminated paddy soil, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 125: 16 24.
- Meers E., Samson R., Tack F.M.G., Ruttens A., Vandegehuchte M., Vangronsveld J., Verloo M.G., 2007, Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *Phaseolus vulgaris*, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 3: 385-396.
- Mohanty M., Kumar D., Patra P., Das B., Rama R., 2010, Phytoremediation: A novel approach for utilization of iron ore wastes, *Environmental Contamination and Toxicology*, 206, 29-47.
- Montes-Carmona M.E., 2008, Estudio técnico-económico de la digestión anaerobia conjunta de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos y lodos de

- depuradora para la obtención de biogás, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Moreno-Carranza I. L., 2016, Efecto de la presencia de Plomo y Cadmio en suelo agrícola en el crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris*, Tesis de maestría, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., Querétaro.
- Moreno-Tovar R., Barbanson, L., Coreño-Alonso O., 2009, Neoformación mineralógica en residuos mineros (jales) del distrito minero Zimapán, estado de Hidalgo, México, *Minería y Geología*, 25, 2, 1-29. ISSN 1993 8012.
- Nagajyoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M., 2010, Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review, Environmental Chemistry Letters, 8:199–216.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2002, Que establece las especificidades de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis.
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.-Protección Ambiental.-Lodos y Biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias.
- Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMARNAT-2003, Que establece el procedimiento para caracterizar los jales, así como las especificaciones y criterios para la caracterización y preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y post operación de presas de jales.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

- Norma oficial mexicana NOM-161-SEMARNAT- 2011, Que establece los criterios para clasificar a los Residuos de Manejo Especial y determinar cuáles están sujetos a Plan de Manejo; el listado de los mismos, el procedimiento para la inclusión o exclusión a dicho listado; así como los elementos y procedimientos para la formulación de los planes de manejo.
- NMX-FF-038-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-fabaceas-frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)-especificaciones y métodos de prueba (cancela a la NMX-FF-038-1995-SCFI).
- NMX-FF-038-1995. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. Leguminosas. Frijol (*Phaselous vulgaris* L.). especificaciones y métodos de prueba. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- Oliveira H., 2012, Chromium as an Environmental Pollutant: Insights on Induced Plant Toxicity: Review Article, *Journal of Botany*, 2012: 1-8. (doi:10.1155/2012/375843), ID 375843.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Arsénico, Nota descriptiva, Junio 2016, <a href="http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs372/es/">http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs372/es/</a>: Consultado [1 de marzo de 2017].
- Orellana R., Moreno J.M., Febles J.M., Vega M., 2007, Propuesta de indicadores edáficos para medir la sostenibilidad de suelos Ferraliticos Rojos de la provincia La Habana, Cuba I Seminario de cooperación y desarrollo en espacios rurales iberoamericanos: sostenibilidad e indicadores, Almeria, 16-17.
- Oropeza N., 2006, Lodos residuales: estabilización y manejo, *Caos Conciencia*, 1: 51-58.
- Padmavathiamma P.K. and Li L.Y., 2007, Phytoremediation Technology: Hyper-Accumulation Metals in Plants, *Water, Air, and Soil Pollution*, 184, 105-126. http://dx.doi.org/10.1007/s11270-007-9401-5
- Pardo T., Clemente, R., Bernal M. P., 2011, Effects of compost, pig slurry and lime on trace element solubility and toxicity in two soils differently affected by mining activities, *Chemosphere*, 84: 642–650.
- Parr P.D., Taylor F.G., 1982, Germination and growth effects of hexavalent chromium in Orocol TL. (a corrosion inhibitor) on *Phaseolus vulgaris*,

- Environmental Protection Seminar, Abril 5-7, 1982, Gatlinburg, Tennessee, USA.
- Pérez-Martínez I., Romero F. M., 2015, Uso de parámetros indirectos para la evaluación de la contaminación de suelos por metales pesados en una zona minera de San Luis Potosí, México, *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 67, 1: 1-12.
- Pliego-Bravo Y.S., García-Reyes M. E., Urrea-García, G. R., Vergara-Hernández, M., 2014, Simulación del proceso termoquímico sugerido para el aprovechamiento de los lodos residuales como fuente de energía alterna, *Revista mexicana de Ingeniería Química*, 13 (2): 619-629.
- Punshon T., Jackson B. P., Meharg A. A., Warczack T., Scheckel K., Guerinot M. L., 2017, Understanding arsenic dynamics in agronomic systems to predict and prevent uptake by crop plants, *Science of the Total Environment*, 581–582: 209–220.
- Prieto-García F., Callejas J., Lechuga M.A., Gaytán J.C., Barrado E., 2005, Acumulación en tejidos vegetales de arsénico provenientes de aguas y suelos de Zimapán, estado de Hidalgo, México, *Bioagro*, 17 (3): 129-135.
- Prieto-García F., Callejas-Hernández J., Román-Gutiérrez A. D., Prieto-Méndez J., Gordillo-Martínez A. J., Méndez-Marzo M. A., 2007, Acumulación de arsénico en el cultivo de habas (*Vicia faba*), *Agronomía Costarricense* 31(2): 101-109. ISSN: 0377-9424 / 2007.
- Prieto-García F., Prieto-Méndez J., Callejas-Hernández J., Román-Gutiérrez A. D., Méndez-Marzo M. A., 2010, Bioacumulación de arsénico en las etapas de desarrollo de la cebada maltera (*Hordeum distichon L.), Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1 (1): 37-44.
- Prieto-Méndez, J., González-Ramírez, C. A., Román-Gutiérrez, A. D., Prieto-García, F., 2009, Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua, *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10 (1): 29-44.
- Qi Y., Szendrak D., Yuen R.T.W., Hoadley A.F.A., Mudd G., 2011, Application of sludge dewatered products to soil and its effects on the leaching behaviour of heavy metals, *Chemical Engineering Journal*, 166: 586–595.

- Ramírez-Coutiño, V., Wrobel, K., Wrobel, K., Navarro, R., Godínez, L. A., Teutli-León, M., Rodríguez, F., 2013, Evaluation of the composting process in digested sewage sludge from a municipal wastewater treatment plant in the city of San Miguel de Allende, Central México, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29 (3): 89-97.
- Rico-Rodríguez, 2013, Estudio de bioacumulación en garbanzo (Cicer Arietinum L.) y daños genotóxicos en tradescantia clon 4430 por presencia de arsénico en aguas y suelos de Zimapán, Hidalgo y Bella Vista del río, Qro. y Querétaro. Tesis doctoral, Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
- Rico-Rodríguez, M. A., Prieto-García, F., Román-Gutiérrez, A. D., Otazo-Sánchez, E. M., Acevedo-Sandoval, O. A., 2013, Caracterización de tres suelos en Hidalgo y Querétaro, México: disponibilidad y daño tóxico por arsénico en garbanzo (Cicer arietinum L.), *Revista FCA UNCUYO*, 45 (1): 225-246.
- Reddy K. S., Rao M. S, 2000, Crop Production Constraints and their Remedies in Calcareous Soils of Andhra Pradesh and Madhya Pradesh, Balanced Nutrition of Groundnut and Other Field Crops Grown in Calcareous Soils of India, *Proceedings of national symposium september 19-22-2000*, Junagadh, Gujarat, India.

https://www.researchgate.net/publication/295908992

- Rodríguez-Canché L.G., Cardoso Vigueros L., Maldonado-Montiel T., Martínez-Sanmiguel M., 2010, Pathogen reduction in septic tank sludge through vermicomposting using *Eisenia fétida, Bioresource Technology* 101: 3548–3553.
- Rompré A., Servais P., Baudart J., de-Roubin M., Laurent P., Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches, 2002, *Journal of Microbiological Methods*, 49, 31–54.
- Ruiz-Huerta E.A. y Armienta-Hernández, 2012, Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros, *Revista Internaciónal sobre Contaminación Ambiental*, 28, (2): 103-117.
- Sadee B.A., Foulkes M.E., Hill S.J., 2016, A study of arsenic speciation in soil, irrigation water and plant tissue: a case study of the broad bean plant, Vicia faba, *Food Chemistry*, 210: 362-370.

- Salehi M.H., 2018, Challenges of Soil Taxonomy and WRB in classifying soils: some examples from Iranian soils, *Bulletin of Geography. Physical Geography Series*, 14:63-70. <a href="http://dx.doi.org/10.2478/bgeo-2018-0005">http://dx.doi.org/10.2478/bgeo-2018-0005</a>
- Shaheen N., Irfan N. Md., Khan I. N., Islam S., Islam Md. S., Ahmed Md. K., 2016, Presence of heavy metals in fruits and vegetables: Health risk implications in Bangladesh, *Chemosphere*, 152: 431-438.
- Shahid M., Shamshad S., Rafiq M., Khalid S., Niazi N. K., Dumat C., Rashid M. I., 2017, Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review, *Chemosphere*, 178: 513-533.
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA), 2013, Manejo sustentable del suelo en México: 1 -11.
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación SAGARPA, 2013, Manual técnico para la producción de hortalizas, huevo de gallina y carne de conejo en unidades de producción familiar: 23-50
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación SAGARPA, 2014, Programa Integral de Desarrollo Rural 2014, Componente de Agricultura Familiar Periurbana y de Traspatio. Carta Tecnológica número 10, Cultivo de Frijol ejotero: 1-2.
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación SAGARPA, 2015, Tercer informe de labores 2014 2015: 9-146.
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación SAGARPA, 2016, Planeación Agrícola Nacional 2016-2030, Subsecretaría de Agricultura: 65-66.
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación SAGARPA, 2017, Aumenta 14 por ciento producción de frijol en México, *Boletín de prensa*, Tlaquepaque, Jalisco, 10 de mayo de 2017.
- Shukla, M.K., Lal, R., Ebinger, M., 2006, Determining soil quality indicators by factor analysis, *Soil and Tillage Research*, 87:194–204.
- Sinha V., Pakshirajan K., Chaturvedi R., 2018, Review: Chromium tolerance, bioaccumulation and localization in plants: An overview, *Journal of Environmental Management*, 206:715-730.

- Singh, R.P., Agrawal M., 2008, Potential benefits and risks of land application of sewage sludge, *Waste Management*, 28: 347–358.
- Soares dos Santos, F., Moura Brasil, N., Mazur N., Garbisu, C., Becerril, J. M., 2011, Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em Brachiaria decumbens Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn, *Química Nova*, 34 (1): 16-20.
- Sposito G., 2008, The Chemistry of Soils, Second edition, Oxford University Press Copyright © 2008 by Oxford University Press, Inc.: 210-268. ISBN 978-0-19-531369-7
- Stambulska U. Y., Bayliak M. M., Lushchak V. I., 2018, Chromium(VI) Toxicity in Legume Plants: Modulation Effects of Rhizobial Symbiosis, *BioMed Research International*, V. 2018: 1-13. https://doi.org/10.1155/2018/8031213, Article ID 8031213
- Strawn D.G., Peak D., Moore A. D., Baker L. L., Cade-Menun B., 2016, Phosphorus Speciation in Calcareous Soils Following Annual Dairy Manure Amendments, *Soil Science Society of America Journal*, 80:1531–1542.
- Sumanta N., Haque C.I., Nishika J., Suprakash R., 2014, Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents, *Research Journal of Chemical Sciences*, 4 (9): 63-69.
- Teutscherova N., Houška J., Navas M., Masaguer A., Vazquez E., 2018, Leaching of ammonium and nitrate from Acrisol and Calcisol amended with holm oak biochar: A column study, *Geoderma*, 323: 136–145.
- Ulloa J.A., Ulloa P.R., Ramírez-Ramírez J.C., Ulloa-Rangel B. E., 2011, El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos, *Revista Fuente*, 3, (8):5-8 ISSN 2007 0713.
- Uneyama C., Toda M., Yamamoto M., Morikawa K., 2007, Arsenic in various foods: Cumulative data, *Food Additives and Contaminants*, 24(5): 447–534.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA 7061A), 1992, Method 7061A Arsenic (atomic absorption, gaseous hydride):1-6.

- United States Environmental Protection Agency (US EPA), 2006, Method 1681:

  Fecal Coliforms in Sewage Sludge (Biosolids) by MultipleTube

  Fermentation using A-1 medium: 23-27.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA 3051A), 2007, Microwave assisted acid digestion of aqueous samples and extracts: 1 -25.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA), 2017, Metals, CADDIS, 2. Disponible: <a href="https://www.epa.gov/caddis-vol2/metals">https://www.epa.gov/caddis-vol2/metals</a>
- Urbano-Reyes G., Reyes-Cruz V. E., Veloz-Rodríguez M. A., Canales-Cabañas C. A., González-Martínez I., 2007, Caracterización electroquímica de suelos contaminados por residuos mineros (jales), XXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Electroquímica. Memorias en Extenso SMEQ 158, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, México. 27 Mayo 1° Junio 2007.
- Urquiza, M.N., López, S., García, B., Flores, A., Cervantes, A.M.F., Guerra, A., Mendoza, L., Sarduy, D., Cabeza, R., Calero, O., 2002, Compendio Manejo sostenible de los suelos, Ediciones Caribe: 13-25.
- Vaca R., Lugo J., Martínez R., Esteller M. V. and Zavaleta H., 2011, Effects of sewage sludge and sewage sludge compost amendment on soil properties and Zea mays I. plants (heavy metals, quality and productivity), *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27 (4): 303-311.
- Vallejo-Miranda O., 2015, Efecto de la dispersión hídrica de arsénico, cadmio y plomo en la calidad de los sedimentos y agua superficial de la microcuenca San Miguel, Zimapán. Tesis presentada para obtener el grado de maestro en ciencias en estudios ambientales y de la sustentabilidad. Centro Interdisciplinario de Investigaciones y estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo. Instituto Politécnico Nacional. México, Distrito Federal. Julio, 2015.
- Vanderzant C. and Splittstoesser D.F., 1992, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd Edition, American Public Health Association, Washington DC: 423-431.
- Weil R. R., Brady N. C., 2016, The nature and properties of soils, *Pearson*, Fifthteenth Edition, Chapter 13: 584-641.

- Wong J.W.C., Li K., Fang M., Su D.C, 2001, Toxicity evaluation of sewage sludges in Hong Kong, *Environment International*, 27: 373–380.
- Yong-He, H., Guang-Mei Y., Jing-Wei, F., Dong-Xing, G., Lena, Q. M., Yanshan, C., 2016, Arsenic-induced plant growth of arsenic-hyperaccumulator Pteris vittata: Impact of arsenic and phosphate rock, *Chemosphere*, 149: 366 372.
- Zhao F.J., McGrath S. P., Meharg A. A., 2010, Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies, *Annual Review of Plant Biology*, 61:535–559.