



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TESIS

EVALUACIÓN *in vitro* DE LA SUSCEPTIBILIDAD A METALES PESADOS EN
PLANTAS DE ZONAS ÁRIDAS

PRESENTA

M. C. Lucila Perales Aguilar

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TUTOR

Dr. Eugenio Martín Pérez Molphe Balch

COMITÉ TUTORAL:

Dra. María del Socorro Carmen Santos Díaz

Dra. Yenny Adriana Gómez Aguirre

Aguascalientes, Ags., a 19 de noviembre del 2019



SECRETARÍA TÉCNICA DEL PROGRAMA DE POSGRADO

M. C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
PRESENTE

Por medio del presente como **TUTOR** designado de la estudiante **LUCILA PERALES AGUILAR** con ID 98696 quien realizó la tesis titulada: **EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA SUSCEPTIBILIDAD A METALES PESADOS EN PLANTAS DE ZONAS ÁRIDAS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 12 de noviembre de 2019.



Dr. Eugenio Martín Pérez Molphe Balch
Tutor de Tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07
Actualización: 01
Fecha: 17/11/19

**CARTA DE VOTO APROBATORIO
INDIVIDUAL**

NOMBRE DEL DECANO
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS
M. C. José de Jesús Ruíz Gallegos
P R E S E N T E

Por medio del presente como **ASESORA** designado del estudiante **LUCILA PERALES AGUILAR** con ID **98696** quien realizó la tesis titulado: **EVALUACIÓN IN VITRO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A METALES PESADOS EN PLANTAS DE LAS ZONAS ÁRIDAS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 12 día de noviembre de 2019.

Ma del Socorro Carmen Santos Díaz
Dra. Ma. del Socorro Carmen Santos Díaz
Asesora de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado



SECRETARÍA TÉCNICA DEL PROGRAMA DE POSGRADO

M. C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
PRESENTE

Por medio del presente como **TUTOR** designado de la estudiante **LUCILA PERALES AGUILAR** con ID 98696 quien realizó la tesis titulada: **EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA SUSCEPTIBILIDAD A METALES PESADOS EN PLANTAS DE ZONAS ÁRIDAS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 12 de noviembre de 2019.

Dr. Eugenio Martín Pérez Molphe Balch
Tutor de Tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07
Actualización: 01
Fecha: 17/11/19



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 13/11/19

NOMBRE: LUCILA PERALES AGUILAR ID 98696

PROGRAMA Doctorado tradicional LGAC (del posgrado): BIOTECNOLOGÍA Y BIOQUÍMICA VEGETAL Y ANIMAL

TIPO DE TRABAJO: Si Tesis () Trabajo práctico

TITULO: Evaluación in vitro de la susceptibilidad a metales pesados en plantas de las zonas áridas

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Restaurar zonas contaminas por la minería con plantas del lugar.

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- Si El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
Si La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
Si Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
Si Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
Si Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
Si El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
Si Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
Si Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- Si Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
Si Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
Si Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
Si Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
Si Coincide con el título y objetivo registrado
Si Tiene congruencia con cuerpos académicos
Si Tiene el CVU del Conacyt actualizado
Si Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- Si Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
Si El estudiante es el primer autor
Si El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
Si En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
Si Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
Si La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

Si X
No

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADESCRIPCION:

DR. FIDEL GUEVARA LARA

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

DRA. ALMA LILIAN GUERRERO BARRERA

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

DR. ROGELIO SALINAS GUTIÉRREZ

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada. Al Fondo Mixto CONACYT- Gobierno del Estado de Aguascalientes por el apoyo financiero otorgado para la realización del proyecto (FOMIX AGS-2015-02-01-267656).

Al Dr. Eugenio Martín Pérez Molphe Balch por haber sido mi tutor y por todo el apoyo. A la Dra. María del Socorro Carmen Santos Díaz por sus consejos, tiempo, apoyo y guía. A la Dra. Yenny Adriana Gómez Aguirre por su asesoría y guía durante este proceso de estudios. A la Dra. Samanta por su guía, por su tiempo y amistad.

A Martha E. Pérez, Isaac Reyes, Laura Yamamoto F. y D. Paloma Martínez B. por el apoyo técnico brindado.

A Normis, Chio, Carmelita, Sonia, Magi, Sandra...que me asesoraron durante mis estudios.

A mis compañeros de la generación del doctorado 2015-2017, en especial con mucho cariño a MariCarmen, Lupita, Julieta, Roberto, Carlos, Josafath y Juan.

A mis amigos Mireya, Jorge, Gladis, Iris, Vero, Dalia, Esteban, Erika y Claudia por su apoyo y amistad durante este proceso.

Dedicatorias

Dedicada con mucho cariño a mi familia:

A mi Padre por estar siempre a mi lado y por su amor incondicional,

A mi Madre por su amor y apoyo incondicional,

A mi hermano Edgar por ser un gran ejemplo en mi vida y estar conmigo siempre,

A mis sobrinos Edgar y Sebastián por su amor y luz,

A mi cuñis Ale por su amor y apoyo,

A mi hermana Liliana por ser mi amiga en las buenas y en las malas,

A Scos por ser mi compañero de vida y estar a mi lado siempre y a

A Octli , Ik, Almendris, Caguis y Satis por ser mi luz y mi compañía en esta vida.

Índice General

| | Pág. |
|---|------|
| Resumen en Español | 5 |
| Abstract | 6 |
| 1. Introducción | 7 |
| 2. Marco teórico | 9 |
| 2.1. Zonas áridas y problemática | 9 |
| 2.2. Características de los metales | 11 |
| 2.3. Uso general de plantas para eliminar metales y sus mecanismos | 16 |
| 2.4. Plantas de zonas áridas que podrían tolerar metales | 20 |
| 2.5. Características de las especies a estudiar y problemas para usar la planta completa | 23 |
| 2.6. Cultivo <i>in vitro</i> , ventajas de usar este sistema | 27 |
| 3. Justificación | 30 |
| 4. Hipótesis | 30 |
| 5. Objetivo general | 31 |
| 5.1. Objetivos específicos | 31 |
| 6. Metodología | 32 |
| 6.1. Material vegetal | 32 |
| 6.2. Propagación <i>in vitro</i> | 34 |
| 6.3. Efectos de los metales pesados en las plantas durante la etapa de enraizamiento | 36 |
| 6.4. Morfología del sistema radical de las plantas de zonas áridas propagadas <i>in vitro</i> | 38 |
| 6.5. Cuantificación de los metales pesados | 39 |
| 7. Resultados y discusión | 43 |
| 7.1. Propagación <i>in vitro</i> | 43 |
| 7.2 Efectos de los metales pesados en las plantas durante la etapa de enraizamiento | 49 |
| 7.3. Morfología del sistema radical de las plantas de zonas áridas propagadas <i>in vitro</i> | 57 |
| 7.4. Cuantificación de los metales pesados | 68 |
| 8. Conclusiones | 82 |
| 9. Bibliografía | 83 |
| 10. Anexos | 94 |

Índice de Cuadros

| | Pág. |
|---|------|
| 1. Niveles óptimos de nutrientes requeridos por las plantas | 12 |
| 2. Efectos tóxicos de los metales pesados en plantas | 15 |
| 3. Plantas tolerantes a metales pesados | 17 |
| 4. Características de las especies representativas de zonas áridas | 24 |
| 5. Familias y especies seleccionadas del Banco de Germoplasma | 33 |
| 6. Medio Murashige y Skoog | 34 |
| 7. Medio de cultivo para la inducción de brotes | 35 |
| 8. Tratamientos de las sales de los metales adicionados al medio de cultivo para la evaluación del efecto en la formación de raíces | 37 |
| 9. Concentración de los metales en el estándar | 41 |
| 10. Tasa de multiplicación potencial con base a los resultados obtenidos de la familia Asparagaceae | 45 |
| 11. Tasa de multiplicación potencial con base a los resultados obtenidos de la familia Cactaceae | 47 |
| 12. Efectos tóxicos en las plantas por la presencia de los metales en el medio de cultivo | 50 |
| 13. Supervivencia de las especies evaluadas expuestas a metales pesados en la etapa de enraizamiento | 54 |
| 14. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cu, Fe, Mn y Zn familia Asparagaceae | 76 |
| 15. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cd, Cr y Pb familia Asparagaceae | 77 |
| 16. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cu, Fe, Mn y Zn familia Cactaceae | 78 |
| 17. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cd, Cr y Pb familia Cactaceae | 78 |

Índice de Gráficas

| | Pág. |
|--|------|
| 1. Promedio de brotes por explante de las especies de la familia Asparagaceae | 44 |
| 2. Promedio de brotes por explante de las especies de la familia Cactaceae | 46 |
| 3. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cu^{+2} , b) Fe^{+2} , c) Mn^{+2} y d) Zn^{+2} | 58 |
| 4. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cd^{+2} , b) Cr^{+6} y c) Pb^{+2} | 60 |
| 5. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cu^{+2} , b) Fe^{+2} , c) Mn^{+2} y d) Zn^{+2} | 64 |
| 6. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cd^{+2} , b) Cr^{+6} y c) Pb^{+2} | 66 |
| 7. Concentración media (\pm SD) de a) Cu^{+2} , b) Fe^{+2} , c) Mn^{+2} y d) Zn^{+2} en parte aérea y raíz familia Asparagaceae | 69 |
| 8. Concentración media (\pm SD) de a) Cd^{+2} , b) Cr^{+6} y c) Pb^{+2} en parte aérea y raíz familia Asparagaceae | 71 |
| 9. Concentración media (\pm SD) de a) Cu^{+2} , b) Fe^{+2} , c) Mn^{+2} y d) Zn^{+2} en parte aérea y raíz familia Cactaceae | 73 |
| 10. Concentración media (\pm SD) de a) Cd^{+2} , b) Cr^{+6} y c) Pb^{+2} en parte aérea y raíz familia Cactaceae | 75 |

Índice de Figuras

| | Pág. |
|--|------|
| 1. Esquema general de la metodología empleada | 32 |
| 2. <i>Agave celsii</i> propagado <i>in vitro</i> dividido en parte aérea y raíz | 39 |
| 3. Esquema de la metodología para cuantificación de metales pesados | 40 |
| 4. Longitud de los explantes de: a) <i>Agave palmeri</i> , b) <i>Beaucarnea goldmanii</i> , c) <i>Yucca carnerosana</i> y d) <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 43 |
| 5. Aspectos de la generación de brotes en: a) <i>Agave salmiana</i> , b) <i>Dasyilirion glaucophyllum</i> , c) <i>Yucca carnerosana</i> y d) <i>Pereskia sacharosa</i> | 48 |
| 6. Brotes para la inducción de raíz : a) <i>Agave titanota</i> , b) <i>Dasyilirion acrotriche</i> c) <i>Yucca filamentosa</i> y d) <i>Opuntia ficus-indica</i> . | 49 |
| 7. Efectos de los metales en las especies a) <i>Agave potatorum</i> expuesta a Cr, b) <i>Yucca filifera</i> expuesta a Cu, c) <i>Echinocereus triglochidiatus</i> expuesta Fe y d) <i>Dasyilirion acrotriche</i> expuesta a Pb | 52 |
| 8. Morfología de las raíces desarrolladas <i>in vitro</i> con su respectivo tratamiento de la especie <i>Agave celsii</i> | 61 |
| 9. Morfología de las raíces desarrolladas <i>in vitro</i> con su respectivo tratamiento de la especie <i>Nolina durangensis</i> | 62 |
| 10. Morfología de las raíces desarrolladas <i>in vitro</i> con su respectivo tratamiento de la especie <i>Yucca filamentosa</i> | 63 |
| 11. Morfología de las raíces desarrolladas <i>in vitro</i> con su respectivo tratamiento de la especie <i>Opuntia amyclaea</i> | 63 |
| 12. Distribución de los metales pesados en plantas | 79 |

Resumen en Español

En Aguascalientes, la contaminación de los suelos por metales pesados se debe principalmente a las actividades mineras y a la industria, lo que ocasiona un grave problema que va en aumento. Por lo tanto es importante estudiar y conocer la capacidad de las plantas nativas para sobrevivir en presencia de metales tóxicos ya que pueden estabilizarlos y eliminarlos del suelo. Los sistemas de propagación *in vitro* son eficientes para la producción de plantas y además pueden ser usados para llevar a cabo diversos tipos de estudios. Los estudios de tolerancia de las plantas ante los metales pesados pueden servir para la determinación de especies aptas para la reforestación de áreas contaminadas. En este trabajo se propagaron *in vitro* 41 especies y se evaluó su proceso de enraizamiento con Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb y Zn. El mayor número de brotes se presentó en las especies *Beaucarnea recurvata* y *Nolina durangensis* con 6 brotes por explante, respectivamente. Las raíces de los brotes de los medios suplementados con metales pesados se compararon con un control. El tratamiento que resultó más tóxico fue el que contenía cromo. El tratamiento con cromo fue tóxico para la mayoría de las especies de las 41 especies propagadas *in vitro*, 14 desarrollaron raíz en todos los tratamientos *Agave celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana*, *A. palmeri*, *Opuntia amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *Pereskia sacharosa*, *Pilosocereus chrysacanthus* y *Polaskia chichipe*. Se determinó la capacidad de estas especies de absorber los contaminantes mediante espectrofotometría de absorción atómica. De acuerdo a los factores de translocación y bioacumulación las especies se clasificaron como fitoestabilizadoras, exclusoras, hiperacumuladoras e indicatoras. La propagación *in vitro* permite generar grandes cantidades de plantas y además estudiar sus respuestas ante la presencia de contaminantes. Los géneros *Agave* y *Opuntia* mostraron ser tolerantes a los metales por lo que tienen uso potencial para fitoestabilizar y remediar suelos contaminados.

Abstract

In Aguascalientes, the contamination of soils by heavy metals is mainly due to mining activities and industry, which causes a serious problem that is increasing. Therefore it is important to study and know the ability of native plants to survive in the presence of toxic metals since they can stabilize and eliminate them from the soil. *In vitro* propagation systems are efficient for the production of plants and can also be used to carry out various types of studies. Studies of tolerance of plants to heavy metals can be used to determine species suitable for reforestation of contaminated areas. In this work 41 species were propagated *in vitro* and their rooting process was evaluated with Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb and Zn. The highest number of shoots occurred in *Beaucarnea recurvata* species and *Nolina durangensis* with 6 shoots per explant, respectively. The roots of the media shoots supplemented with heavy metals were compared with a control. The most toxic treatment was the chromium treatment. Chromium treatment was toxic for most species of the 41 species propagated *in vitro*, 14 developed root in all treatments *Agave celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana*, *A. palmeri*, *Opuntia amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *Pereskia sacharosa*, *Pilosocereus chrysacanthus* and *Polaskia chichipe*. The ability of these species to absorb contaminants was determined by atomic absorption spectrophotometry. According to the translocation and bioaccumulation factors, the species were classified as phytostabilizers, excluders, hyperaccumulators and indicators. *In vitro* propagation allows to generate large quantities of plants and also to study their responses in the presence of contaminants. The genus *Agave* and *Opuntia* showed to be tolerant to metals, so they have the potential use to phytostabilize and remediate contaminated soils.

1. Introducción

Las zonas áridas ocupan más del 40% de la superficie terrestre y se encuentran ubicadas en casi todos los continentes del mundo. México presenta extensas regiones de zonas semiáridas, áridas y muy áridas, que cubren el 54.3% de la superficie total. De los 32 estados que integran el territorio nacional, 25 presentan porciones áridas en mayor o menor proporción. Estas zonas áridas, cubren casi totalmente las superficies territoriales de los estados de Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Coahuila y Sonora. Se estima que la flora que las constituye, está representada por unas seis mil especies, de las cuales 50% son endémicas. Debido a la sobreexplotación y el saqueo irracional de las poblaciones muchas de estas especies se encuentran amenazadas y/o en peligro de extinción (Cervantes, 2005; González, 2012). Tienen ciclos de vida muy largos, bajas tasas de crecimiento y varias de ellas tienen un mecanismo de reproducción sexual ineficiente, lo que dificulta la propagación masiva por métodos convencionales (Santos-Díaz *et al.*, 2010). La propagación *in vitro* es recomendada como una herramienta biotecnológica para conservar especies en peligro de extinción de las zonas áridas (Mata *et al.*, 2001). Es una técnica útil, porque una vez establecidos los cultivos, están disponibles en cualquier momento para el investigador y el tiempo se reduce considerablemente al compararlo con el uso de plantas enteras (Couselo *et al.*, 2010). Las plantas necesitan de micronutrientes esenciales para vivir como Fe, Mn, Cu y Zn, que son considerados metales pesados, existen otros como Cd, Cr y Pb que son tóxicos para las plantas hasta en pequeñas concentraciones (Esetlili *et al.*, 2014).

En México existen muchos sitios contaminados por metales pesados debido a la minería, y a las actividades industriales (Benin *et al.*, 1999; Salas-Luévano *et al.*, 2017). Los estados más afectados son Zacatecas, Querétaro, Hidalgo, Guanajuato y San Luis Potosí, en donde se detectan cantidades elevadas de Cu, Cr, Fe, Mn y Pb (Ramos-Gómez *et al.* 2012; Covarrubias y Peña, 2017). Los metales más comunes encontrados en sitios contaminados en orden de abundancia son Pb, Cr, Zn, Cd y Cu (Wuana y Okieimen, 2011). La problemática de las zonas áridas del país, se caracteriza por una diversificada explotación minera que causa la contaminación del suelo por metales pesados lo que lleva a la pérdida de la cubierta vegetal

lo que con lleva a la erosión (Guala *et al.*, 2010). Los metales pesados provocan estrés oxidativo y/o pueden sustituir metales esenciales en enzimas y proteínas inactivándolas. Las plantas poseen mecanismos de defensa para regular la concentración de iones metálicos dentro de la célula para minimizar el daño (Benavides *et al.*, 2005). Algunos mecanismos son sistemas antioxidantes, unión de moléculas con el metal, fitoestabilización, exclusión y acumulación (Srivastava, 2016; Sruthi *et al.*, 2017). La raíz es el tejido de entrada principal de los metales a la planta, la raíz posee cargas negativas, que interaccionan con las cargas positivas de los metales. Algunos metales como Cd, Cr y Pb quedan retenidos en la pared celular, estos compiten con los metales esenciales para ser absorbidos por la planta. Los metales se ligan a aminoácidos, ácidos orgánicos y fitoquelatinas y son transportados a la célula a través de reacciones de conjugación, donde se agrega un grupo polar al metal, incrementando la solubilidad del tóxico. Muchas especies regulan la cantidad de metales y lo secuestran en vacuola y lo inactivan en compartimientos celulares donde quedan excluidos de procesos de respiración o división celular (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007). El análisis *in vitro* de la tolerancia a metales pesados ya se ha realizado con *Arabidopsis thaliana L.* (Čiamporová *et al.*, 2015), y con especies como *Populus tremula*, *Helianthus annuus* y *Zea mays* (Kališová-Špirochová *et al.*, 2002) pero existen pocos reportes en especies de zonas áridas. Las investigaciones sobre la vegetación de zonas áridas que crece en suelos afectados por la actividad minera, puede proporcionar información útil sobre la tolerancia, acumulación y translocación de metales pesados y puede servir para la rehabilitación del paisaje (Tamás y Kovács, 2005). Las plantas tolerantes se pueden utilizar para restablecer la capa vegetal en sitios contaminados con altos niveles de metales (Prasad *et al.*, 2010; Fu *et al.*, 2019). El presente trabajo evaluó *in vitro* la susceptibilidad de 41 plantas nativas de las zonas áridas ante metales pesados, las especies tolerantes tienen uso potencial en la restauración de sitios contaminados por la minería.

2. Marco teórico

2.1 Zonas áridas y problemática

Se han propuesto diferentes conceptos de aridez. Uno de ellos se define como aquellas regiones cuya provisión de agua es deficiente, su precipitación y su humedad atmosféricas tienen valores muy por debajo del promedio anual mundial. La precipitación media anual mundial es de 840 mm (González, 2012). Las zonas áridas están localizadas en casi todos los continentes del mundo principalmente en Asia, África y Australia. En el Norte de América, se encuentran al sur en Estados Unidos y norte de México; y en Sur América están localizadas en Brasil, Argentina, Chile y otros países (Hochstrasser *et al.*, 2002).

La precipitación en las zonas áridas es escasa y variable y las temperaturas son extremas superando los 40⁰ C o muy bajas hasta -10⁰ C (Cervantes, 2005). El clima, la latitud y la escasez de agua han jugado un papel importante en la diversidad biológica de zonas áridas las cuales albergan una gran variedad de plantas que han evolucionado para colonizar estos hábitats únicos (Davies *et al.*, 2012). Los suelos que existen en zonas áridas reciben el nombre genérico de xerosoles o aridisoles, sin embargo, la gran cantidad de sustratos geológicos, característicos del relieve y condiciones climáticas locales, han permitido el desarrollo de muy diversos tipos de ellos. En ciertas porciones del estado de Aguascalientes, existen suelos llamados phaeozem, de color oscuro, que tienen alto nivel de fertilidad cuando son más profundos y cuando existe traslocación de partículas se forman los suelos vertisoles, suelos pesados, arcillosos y de manejo difícil (Cervantes, 2005).

La vegetación en zonas áridas y semiáridas se ha adaptado a su medio ambiente para sobrevivir. Dado que la disponibilidad de agua es el factor limitante más importante, las plantas del desierto muestran adaptaciones morfológicas que les permiten soportar la falta de humedad y períodos prolongados de sequía. Estas adaptaciones incluyen una mayor capacidad de almacenar agua, la reducción de la superficie de la hoja o la ausencia de la hoja para bajar la tasa de transpiración. Las plantas que disminuyen la pérdida de agua se llaman xerófitas. Las plantas del desierto son xerófitas y la mayoría presentan espinas. Las espinas

son estructuras lignificadas, rígidas y puntiagudas y son una modificación de las hojas. Muchas xerófitas, además de controlar la pérdida de agua también la almacenan en sus tejidos y tienen raíces profundas que les permite extraer el agua del subsuelo a mayor profundidad (Chopra y Paris, 1960).

La mayoría de las plantas adaptadas a las zonas áridas presentan un mecanismo fotosintético particular, conocido como CAM (Metabolismo Ácido de las Crassulaceas). La fotosíntesis CAM, consta de una fase en la que los estomas se abren en la noche para dejar entrar CO_2 y salir agua. El CO_2 es transformado en malato con la intervención de la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), en la fase diurna los estomas se cierran y el malato se transforma en CO_2 lo que da inicio al ciclo del Calvin (Matiz *et al.*, 2013). Estos mecanismos permiten reducir considerablemente la pérdida de agua asociada a la fotosíntesis, al abrirse los estomas sólo durante la noche. Las plantas CAM son capaces de responder con rapidez a la deficiencia hídrica, aun después de periodos considerables de sequía, con un rápido incremento de asimilación neta de CO_2 , después de la precipitación (González, 2012). El metabolismo CAM, les permite vivir exitosamente en ambientes con escasez de agua (Jiménez-Sierra, 2011).

Los problemas de las zonas áridas y semiáridas en el mundo son: la erosión, la salinización del suelo, la comercialización y la pérdida de la cubierta vegetal por contaminación (Sharma y Tewari, 2005). En el norte de México, la minería, ha sido la principal causa de contaminación, debido a que a partir de esta actividad, se fundaron diversas ciudades como Guanajuato, Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes. En Aguascalientes se extraen plata, oro, plomo, cobre y zinc. Como consecuencia de la minería, los ecosistemas han sufrido una serie de impactos negativos, como la destrucción, contaminación, modificación del paisaje y pérdida de especies. El suelo es un ecosistema complejo formado por partículas sólidas, orgánicas e inorgánicas, aire, agua y microorganismos. El suelo funciona como filtro, regulador y transformador de una gran variedad de contaminantes; tienen una gran capacidad amortiguadora de sustancias tóxicas, pero si se rebasan estos límites, pierde su capacidad (Estudio de Estado, 2008; Martínez-Hernández, *et al.*, 2016).

2.2 Características de los metales

Los metales se producen por procesos de meteorización de materiales parentales a niveles que se consideran rara vez tóxicos. Los suelos se contaminan por metales a través de las emisiones de las zonas industriales, residuos mineros, gasolina con plomo y pinturas, la aplicación al suelo de fertilizante, lodos depurados, plaguicidas, riego con aguas residuales y derrames petroquímico, entre otros. Los metales más comunes encontrados en los sitios contaminados, en orden de abundancia son plomo (Pb), cromo (Cr), zinc (Zn), cadmio (Cd) y cobre (Cu). Estos metales disminuyen la producción de cultivos, debido al riesgo de bioacumulación y biomagnificación en la cadena alimentaria (Wuana y Okieimen, 2011).

Varios metales como el hierro (Fe), manganeso (Mn), Zn y Cu en pequeñas cantidades, son esenciales para las plantas (micronutrientes) para tener un crecimiento sano y vigoroso, cuando están presentes en exceso, se convierten en tóxicos; otros metales no tienen función biológica y son tóxicos en pequeñas concentraciones para las plantas como Cd, Cr y Pb (Dargo y Gebresilassie, 2014; Esetlili *et al.*, 2014).

Los micronutrientes a pesar de encontrarse en bajas concentraciones, tienen la misma importancia que los macronutrientes en el crecimiento de los cultivos. En la Cuadro 1 se muestran los niveles de los nutrientes requeridos por las plantas (Kirkby y Romheld, 2008).

Cuadro 1. Niveles óptimos de nutrientes requeridos por las plantas.

| Nutriente | Elemento | Contenido mineral (mg Kg ⁻¹) |
|-----------------------|----------------|--|
| Macronutriente | Azufre (S) | 1 000 |
| | Fósforo (P) | 2 000 |
| | Magnesio (Mg) | 2 000 |
| | Calcio (Ca) | 5 000 |
| | Potasio (K) | 10 000 |
| | Nitrógeno (N) | 15 000 |
| | Oxígeno (O) | 450 000 |
| | Carbono (C) | 450 000 |
| | Hidrógeno (H) | 60 000 |
| Micronutriente | Níquel (Ni) | 0.05 |
| | Molibdeno (Mo) | 0.1 |
| | Cobre (Cu) | 6 |
| | Zinc (Zn) | 20 |
| | Manganeso (Mn) | 50 |
| | Hierro (Fe) | 100 |
| | Boro (B) | 20 |
| | Cloro (Cl) | 100 |

Los efectos biotóxicos (incorporación a la cadena alimenticia) de los metales pesados son motivo de gran preocupación. Los metales pesados se liberan al medio ambiente naturalmente y por fuentes antropogénicas, especialmente la minería y las actividades industriales, ellos se filtran en las aguas subterráneas, moviéndose a acuíferos o arrastrados por escorrentías para llegar finalmente al suelo. Los metales se encuentran disponibles para las plantas en suelos con pH ácidos, sólo en cromo a pH alcalino (Duruibe *et al.*, 2007).

Cadmio (Cd). Su abundancia promedio en la corteza terrestre es de 0.16 ppm; en suelos de 0.1 a 0.5 ppm; en ríos de 1 µg L⁻¹ y en aguas subterráneas de 1 a 10 µg L⁻¹. Se encuentra en combinaciones con minerales que también contienen zinc, plomo o cobre. Este metal es usado en galvanoplastia, baterías, pigmentos de pinturas y en aleaciones con otros metales.

El cadmio es considerado altamente tóxico y está asociado con la minería (Peer *et al.*, 2005). Las plantas intoxicadas con Cd presentan clorosis, inhibición del crecimiento, oscurecimiento de las puntas de las raíces y finalmente mueren. El Cd interfiere en la absorción y el transporte de varios elementos (Ca, Mg, P y K). También disminuye la fijación de nitrógeno y la funcionalidad de las membranas al inducir la peroxidación lipídica (Gill, 2014).

Cobre (Cu). Es un elemento esencial para la vida, sin embargo, los animales y las plantas pueden acumular niveles tóxicos de cobre. La sal de cobre más común es el sulfato de cobre. Los compuestos de cobre son usados en la agricultura para tratar enfermedades de las plantas. La contaminación de cobre de suelos y agua subterránea por lo general se debe a la minería. La mayoría de las plantas toleran el metal por medio de exclusión (Peer *et al.*, 2005). En los suelos el Cu se encuentra presente principalmente en la forma divalente. El cobre ayuda en el metabolismo de las raíces y ayuda que las plantas utilicen mejor las proteínas. El cobre es un constituyente de ciertas proteínas como la plastocianina, también se encuentra presente en la lignina del xilema, es absorbido por las plantas en forma de Cu^{2+} . Es importante en la asimilación de CO_2 y en la síntesis de ATP. El cobre es componente esencial de varias proteínas como la plastocianina del sistema fotosintético y el citocromo (Scott, 2005; Gill, 2014).

Cromo (Cr). Su abundancia promedio en la corteza terrestre es de 12 ppm, en suelos un rango de 11 a 22 ppm y en corrientes acuáticas un promedio de $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Es encontrado principalmente como mineral cromo-ferro. Se emplea en aleaciones, galvanoplastia, en pigmentos y los cromatos son frecuentemente adicionados al agua de enfriamiento para el control de la corrosión. El cromo es considerado no esencial para las plantas, pero es un elemento esencial para los animales. Está presente en muchos estados de oxidación en el medio ambiente Cr II a Cr VI, que es considerado mucho más tóxico que el Cr III y es carcinógeno (Peer *et al.*, 2005).

Hierro (Fe). Es un elemento esencial para las plantas y para los animales. Es el metal más extenso y más abundante en la superficie de la tierra. Debido a la facilidad con la cual reacciona, es raro encontrarlo en forma de hierro puro. Por su avidez por el oxígeno, se encuentra en la naturaleza principalmente en forma de óxidos. Los compuestos más usados por la industria para la extracción de este metal son: hematita, limonita, magnetita y siderita. La explotación del mineral se realiza por el método de minado a cielo abierto. Es absorbido por las plantas en forma Fe^{2+} . El fierro funciona como componente de citocromo y como cofactor enzimático, esencial para la síntesis de clorofila (Scott, 2005).

Manganeso (Mn). Es un micronutriente esencial para la síntesis de clorofila. El manganeso es un elemento poco abundante. Es un metal que se encuentra en muchos tipos de rocas. Entra al medio ambiente desde plantas de fierro, acero y centrales eléctricas, hornos de coque y de polvo generado por operaciones de minería. El Mn compite con el Fe, y en menor grado con el Cu, Zn, Mg y Ca para ser absorbido por la planta. En suelo se presenta principalmente como Mn^{2+} . Participa en el funcionamiento del fotosistema II de la fotosíntesis, responsable de la fotólisis del agua. Es transportador de electrones en el proceso de fotosíntesis. El Mn se mueve a la planta principalmente como ion libre en el floema. Es importante en la transferencia de electrones y fomenta la formación de las raíces laterales. Las manchas de color marrón necróticas en las hojas, pecíolos y tallos son un síntoma de toxicidad por Mn (Scott, 2005; Gill, 2014.)

Plomo (Pb). Es uno de los principales contaminantes ambientales. Su presencia en abastecimientos de agua puede provenir de descargas industriales, mineras, de hornos de fundición o de la disolución de algunas tuberías. El plomo es un metal tóxico sin función fisiológica en el organismo (Torres *et al.*, 2001). Provoca un efecto adverso en la morfología, crecimiento y los procesos fotosintéticos de las plantas. Inhibe el alargamiento de la raíz y el tallo. El plomo causa un engrosamiento radial irregular en las raíces. También afecta la fotosíntesis al inhibir la actividad de las enzimas carboxilasas (Gill, 2014).

Zinc (Zn). Es un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, pero no es abundante, ya que representa sólo el 0.012 % de la corteza terrestre. En los suelos se encuentra en forma

divalente Zn^{2+} . La mayor parte del zinc producido se emplea en la galvanización del hierro y acero, así como en la manufacturación del latón. El zinc es considerado un micronutriente pero en concentraciones altas es tóxico (Rubio *et al.*, 2007). Es muy importante en las plantas, ya que forma parte de la producción de las hormonas de crecimiento (síntesis de auxina), participa en la activación enzimática, así como en los procesos de respiración y mantiene la estructura del ribosoma (Scott, 2005).

A continuación se presenta el Cuadro 2 los efectos tóxicos de los metales pesados (Chibuike y Obiora, 2014).

Cuadro 2. Efectos tóxicos de los metales pesados en plantas.

| Metal pesado | Planta | Efecto |
|---------------------|---|--|
| Cd | <i>Triticum</i> sp. (Trigo) | Reducción de la longitud del tallo y la raíz |
| | <i>Allium sativum</i> (Ajo) | Acumulación del metal. |
| | <i>Zea mays</i> (Maíz) | Inhibición del crecimiento de la raíz |
| Cu | <i>Phaseolus vulgaris</i> (Frijol) | Acumulación del metal en raíz y malformación |
| | <i>Polygonum convolvulus</i> (enredadera negra) | Reducción de biomasa |
| | <i>Chloris gayana</i> (Hierba de Rhodes) | Reducción del crecimiento de la raíz |
| Cr | <i>Triticum</i> sp. | Reducción del crecimiento de la raíz |
| | <i>Lycopersicon esculentum</i> (Tomate) | Disminución en la adquisición de nutrientes |
| | <i>Allium cepa</i> (Cebolla) | Reducción de biomasa |

| | | |
|-----------|---|---|
| Fe | <i>Arthronemum macrostachyum</i> | Acumulación del metal en raíz |
| | <i>Arabidopsis thaliana</i> | Acumulación del metal |
| Mn | <i>Vicia faba</i> (Haba) | Acumulación del metal en parte aérea y raíz |
| | <i>Mentha spicata</i> (Menta verde) | Disminución de la clorofila |
| | <i>Pisum sativum</i> (Guisante) | Reducción en la tasa de crecimiento |
| Pb | <i>Zea mays</i> | Disminución en el contenido de proteína vegetal |
| | <i>Thespesia populnea</i> (Árbol de Portia) | Disminución de longitud de la planta |
| | <i>Avena sativa</i> | Inhibición en la actividad enzimática |
| Zn | <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (Haba de racimo) | Reducción en biomasa |
| | <i>Pisum sativum</i> | Alteraciones en las estructuras de cloroplastos |
| | <i>Lolium perenne</i> (Hierba de centeno) | Acumulación del metal en la parte aérea |

2.3 Uso general de plantas para eliminar metales y sus mecanismos

Debido a las acciones antropogénicas, actualmente el medio ambiente está fuertemente contaminado por diversos metales tóxicos. El estudio de plantas tolerantes a metales pesados, es de gran importancia debido a que permite minimizar el problema de contaminación del suelo (Mudgal *et al.*, 2010).

El término hiperacumulación, describe, la función una serie de plantas que tienen la capacidad de crecer en suelos contaminados por metales pesados y acumular altas cantidades de ellos en los órganos aéreos, muy por encima de los niveles que se encuentran en la mayoría de las especies, sin sufrir efectos fitotóxicos (Sarangi y Chakrabarti, 2008; Rascio y Navari-Izzo, 2011).

En el Cuadro 3 se muestra ejemplos de plantas propagadas *in vitro* y la concentración de metales pesados a las que fueron expuestas, de acuerdo a la literatura revisada.

Cuadro 3. Plantas tolerantes a metales pesados.

| Familia | Planta | Metal | Concentración | Autor |
|----------------|-----------------------------|-------------------------|---|--|
| Apocynaceae | <i>Rauvolfia serpentina</i> | Cobre Zinc | 5-200 μM 5-500 μM | Ahmad <i>et al.</i> , 2015 |
| Asteraceae | <i>Pluchea lanceolata</i> | Zinc Cobre | 100–150 μM 50-150 μM | Kumar <i>et al.</i> , 2004 |
| Brassicaceae | <i>Arabidopsis thaliana</i> | Zinc Niquel Plomo | 2000 μM 250 μM 1500 μM | Vargas-Palomino <i>et al.</i> , 2007 |
| Bromeliaceae | <i>Aechmea blanchetiana</i> | Cobre Zinc | 14.5 μM 274 μM | Giampaoli <i>et al.</i> , 2012. |
| Fabaceae | <i>Albizia lebeck</i> | Zinc Cobre Cadmio | 0.06-0.48 mM 0.02-0.2 mM 0.0001-0.001 mM | Perveen <i>et al.</i> , 2012. |
| Poaceae | <i>Zea mays</i> | Plomo | 0.1 mM 0.5 mM | Kalisavá-Spirochová <i>et al.</i> , 2003 |

| | | | | |
|-------------|----------------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| Leguminosae | <i>Prosopis juliflora</i> | Cadmio Cobre Zinc | 300 μ M 500 μ M 1 mM | Usha <i>et al.</i> , 2009 |
| Poaceae | <i>Gynerium sagittatum</i> | Mercurio | 75 μ g/g | Ortega <i>et al.</i> , 2011 |

Las plantas acumulan metales pesados debido a procesos de:

Absorción y transporte. Las plantas absorben y transportan el metal en un proceso de acumulación que implica varios pasos. La absorción en la raíz puede llevarse a cabo por dos vías simplasto o apoplasto. Las sales de metal solubles entran en el simplasto, cruzando la membrana plasmática de las células endodérmicas o entran en el apoplasto de la raíz a través del espacio entre células, donde los solutos cruzan las bandas de Casparian, que es una capa de cera impermeable a los solutos, o pueden pasar por las células de la endodermis a través de un canal en la membrana (absorción). Una vez en el xilema, inicia el paso de translocación donde el flujo de la savia transporta el metal a las hojas. El metal translocado al tejido aéreo puede ser almacenado en diferentes tipos de células. Dependiendo de la especie y la forma del metal, se pueden convertir en menos tóxico para la planta (bioacumulación) (Peer *et al.*, 2005).

Quelación: Los metales muestran afinidad por determinados grupos funcionales como principales ligandos (grupos sulfidrilo, radicales amino, fosfatos, carboxilos e hidroxilos). Los ligandos que básicamente utilizan son aminoácidos (histidina, cisteína), ácidos orgánicos (citrato, oxalato, malato) y específicamente dos clases de péptidos: fitoquelatinas (oligopéptidos formados por la condensación de varias moléculas de glutatión) y metalotioneinas (ricas en cisteína), que son proteínas que quelan metales, se unen al metal para evitar daños a la célula (Mudgal *et al.*, 2010).

Compartimentación: proceso por el que el complejo ligando-metal queda retenido en vacuola. El transporte y acumulación de metales en el interior de la vacuola se debe a la tolerancia y a la detoxificación. Se conocen 5 familias de proteínas transportadoras de Cd a través de la membrana al interior de la célula en plantas 1) Antitransportador de M^+/H^+ , 2) Del tipo CPx ATPasas, 3) Facilitadores de difusión de cationes (CDF), 4) Los tipo Nramp (Natural resistance associated macrophage proteins) localizada en la membrana de la vacuola y 5) Proteínas ZIP como ZRT-IRT (Cortés *et al.*, 2018).

Mecanismos de reparación celular: mecanismos que restablecen las características iniciales de la planta tales como la activación de sistemas de defensa que suprimen o eliminan una especie reactiva de oxígeno (ERO), disminuyendo el estrés oxidativo celular. Los niveles celulares de ERO son estrictamente regulados por una compleja red de defensa antioxidante, que incluye reacciones enzimáticas y moléculas amortiguadoras antioxidantes. La red de defensa antioxidante actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Esta defensa puede actuar de dos formas minimizando la producción de ERO; o eliminando las ERO producidas. En las células vegetales, los antioxidantes más importantes que regulan la homeostasis de ERO son el ascorbato (ASC) y el glutatión (GSH), además de taninos, flavonoides, α - tocoferol, carotenoides y precursores de la lignina (que sirven de protección). Estas moléculas actúan como una red que, a través de una serie de reacciones redox, evita el daño por ERO. La deshidroascorbato reductasa (DHAR), monodeshidroascorbato reductasa (MDHAR) y glutatión reductasa (GR) son enzimas que actúan en el ciclo ascorbato-glutatión (ASC-GSH) cuya función es eliminar al peróxido de hidrógeno (H_2O_2), los metales inactivan estas enzimas, disminuyendo así su función antioxidante. El impacto bioquímico de cada contaminante sobre las células vegetales es tan diverso como su naturaleza química, pero existe una clara relación entre el grado de tolerancia y la eficiencia de la red de defensa antioxidante (Peralta-Pérez y Volke-Sepúlveda, 2012).

La fitorremediación de compuestos como los metales pesados implica:

a) Fitoextracción o fitoacumulación: consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas. La fitoacumulación se puede repetir varias veces hasta que la concentración remanente de metales en el suelo este dentro de los límites considerados como aceptables y se usa para contaminantes que no pueden ser degradados como los metales pesados. El mecanismo involucrado es hiperacumulación (Delgadillo-López *et al.*, 2011).

b) Fitoestabilización: es un mecanismo que utiliza la planta para desarrollar un sistema denso de raíces, que le permite reducir la biodisponibilidad y la movilidad de los contaminantes evitando el transporte a capas subterráneas o a la atmósfera. El mecanismo involucrado es complejación en contaminantes inorgánicos inmovilizándolo así en la interfase raíz-suelo (López-Martínez *et al.*, 2005).

c) Fitovolatilización: implica el uso de plantas para absorber contaminantes del suelo, transformándolos en forma volátil a través de las hojas. La fitovolatilización se utiliza principalmente para eliminar mercurio y selenio (Ghosh y Singh, 2005).

Para la remoción efectiva de metales pesados se recomiendan los procesos de fitoextracción (plantas hiperacumuladoras) y fitoestabilización (plantas exclusoras) (Peralta-Pérez y Volke-Sepúlveda, 2012).

2.4 Plantas de zonas áridas que podrían tolerar metales

Las plantas tolerantes a metales pesados son capaces de sobrevivir, crecer y reproducirse en suelos contaminados (Zitka *et al.*, 2013). Las plantas tienen muchos mecanismos de desintoxicación y tolerancia que permiten sobrevivir en suelos contaminados con metales (Hall *et al.*, 2002).

Las familias más representativas de las zonas áridas de México, que tienen amplia distribución en nuestro país y podrían tolerar metales son:

a) Familia Asparagaceae.

Los Agaves están constituidos por plantas monocotiledóneas, comprende alrededor de 197 especies de las cuales 136 se encuentran en México, crecen de forma natural en el norte y centro de América, aunque varias especies han sido introducidas en varios países de África y Asia, donde se utilizan como alimentos, bebidas, forraje, fibra u ornamental. Los géneros más importantes son *Agave* (Magueyes) y *Yucca* (Palma del Desierto). México es el centro de origen del género *Agave* que crece, principalmente en las zonas áridas y semiáridas, el 74% de las especies son endémicas (Mendoza, 2007). Los Agaves se caracterizan por tener hojas carnosas rígidas y de superficie dura que crecen directamente del tronco para formar una roseta densa. Las hojas nacen en el tallo y rematan en una espina fuerte y oscura, las distintas especies varían en longitud desde 1 a 2 metros y en la mayoría de las especies las hojas contienen espinas afiladas. Los tallos son de cortos a grandes, tienen rizomas subterráneos, los frutos son bayas que contienen semillas (Zwane *et al.*, 2011). Son plantas suculentas cuyas características morfofisiológicas están relacionadas, no sólo con la disponibilidad de agua, sino también con las temperaturas predominantes de las diferentes regiones donde crecen. Las suculentas poseen órganos fotosintéticos masivos que les permiten almacenar gran cantidad de calor (González, 2012).

El *Agave potatorum* es de gran importancia en el país porque se utiliza en la producción de mezcal. Es una de las especies más vulnerables debido a las elevadas tasas de extracción por la creciente demanda de mezcal (Torres *et al.*, 2013). Del *Agave salmiana* se obtiene el pulque (bebida ancestral) y también es explotado como forraje (Morales *et al.*, 2002).

Las *Yucca* son arbustos o subarbustos trepadores o hierbas perennes erectas. Rizomas breves o desarrollados, horizontales. Raíces fibrosas o carnosas, a veces tuberosas. Tallos erectos; espinas foliares o caulinares, solitarias o en fascículos. Cladodios axilares, solitarios o en fascículos o lineares. Hojas alternas simples, sésiles, escuamiformes o muy reducidas, a

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

menudo prolongadas en la base en una espina recta o curva. Flores actinomorfas, bisexuales o unisexuales, péndulas o erectas; pedicelos articulados. Con amplia distribución en las zonas áridas de América del Norte (Hurell y Delucchi, 2012). Están conformadas por 44 especies, 31 se encuentran en México, son plantas de hoja perenne, hojas roseófilas, suculentas-fibrosas, resistentes a la sequía (plantas CAM). Son protectoras del suelo y se usan como alimento, forraje, textil, ornamental (Granados-Sánchez y López-Ríos, 1998). Entre las especies productoras de fibras duras se encuentra la *Yucca carnerosana* conocida como palma samandoca, ya que de las hojas tiernas o cogollos se extrae el ixtle de palma con el cual se produce hilo y tela (INIFAP y SEMARNAT, 2009).

Cuatro géneros de gran importancia son *Beaucarnea*, *Calibanus*, *Dasyllirion* y *Nolina*. Son plantas que se utilizan para el consumo humano y alimento de ganado, así como una fuente de construcción de materiales, fabricación de artesanías y bebidas alcohólicas. El género *Beaucarnea* conocida como pata de elefante destaca por su gran belleza lo que ha conducido al saqueo de las poblaciones naturales. Son de tallo corto o casi sin tallo. Frecuentemente se propagan por semilla, aunque también produce vástagos a partir de la cauda, que es la región de la base del tallo (Robles y España, 2008). El género *Dasyllirion* comprende especies que están distribuidas en las regiones áridas y semiáridas montañosas del norte México y el suroeste de EE.UU, varias especies reciben el nombre de sotol, de donde se extrae una bebida alcohólica; el hábitat de estas plantas es el matorral xerófilo de zonas secas, particularmente los matorrales desérticos. Son perennes, monocotiledóneas, dioicas (presentan flores hembra y macho, en plantas separadas) (Encina-Domínguez *et al.*, 2013). El género *Nolina* con frecuencia presenta tallos gruesos y bien desarrollados con hojas en rosetas (Rivera-Lugo y Solano, 2012).

b) Familia Cactaceae.

La familia Cactaceae, incluye plantas perennes, dicotiledóneas y son desde muy pequeñas hasta gigantescas, suelen tener tallos gruesos y carnosos (suculentos). Las hojas típicas están ausentes, excepto en el género *Pereskia* que son simples, suculentas y alternas. Las hojas

evolucionaron y se transformaron en espinas. Las flores delicadas, son de colores brillantes y vistosos. El fruto es comúnmente carnoso, en algunos géneros secos y huecos (Becerra, 2000). Las formas de crecimiento en las cactáceas son arbóreo y arbustivo; otras son epífitas y trepadoras, las cuales crecen encima de otras plantas, como la especie *Hylocereus undatus*. Algunas formas son 1) Globular de tamaño grande, 2) Globular pequeña, 3) Columnar y 4) Colgante (Ceja *et al.*, 2008, Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012).

Las cactáceas se encuentran distribuidas en el continente americano, desde el norte de Canadá hasta la Patagonia. La mayoría de ellas se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos, los cuales coinciden con latitudes cercanas a los paralelos de 25°, donde dominan zonas de alta presión atmosférica con corrientes descendientes de aire seco. México es el centro más importante del mundo en concentración de cactáceas, se reconoce la existencia de 913 taxones, conformando 669 especies, las cuales se encuentran agrupadas en 63 géneros, y se reconocen 244 subespecies. Una de las razones por las cuales muchas especies se encuentran en riesgo, se debe al gran endemismo de sus poblaciones. En México el 80% de los taxones son endémicos (Jiménez-Sierra, 2011).

En las zonas áridas de México y desiertos norteamericanos, las cactáceas, son el grupo más notorio de plantas suculentas o plantas crasas (que almacena agua en sus tejidos). Casi todas las partes de las cactáceas se utilizan para consumo humano o animal (Hernández *et al.*, 2004).

2.5 Características de las especies a estudiar y problemas para usar planta completa

En el Cuadro 4 se muestra la distribución, el tamaño y el grado de amenaza de cada una de las especies más importantes de las zonas áridas que se evaluaron para restaurar sitios contaminados con metales pesados y así impedir se pierda la cubierta vegetal del suelo (Meza, 2011).

Cuadro 4. Características de las especies representativas de zonas áridas.

| Familia | Especie | Distribución | Tamaño | Grado de amenaza |
|--------------|-------------------------------|--|--------|-----------------------------------|
| Asparagaceae | <i>Agave bracteosa</i> | Noreste de México (endémica) | 80 cm | Amenazada |
| | <i>Agave celsii</i> | Norte de México | 60 cm | Amenazada |
| | <i>Agave chiapensis</i> | Sur de México (endémica) | 50 cm | Protección especial |
| | <i>Agave difformis</i> | Centro-Norte de México (endémica) | 100 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Agave funkiana</i> | Sur de México | 90 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Agave obscura</i> | Este de México | 80 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Agave palmeri</i> | Suroeste de México | 70 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Agave peacockii</i> | Centro de México (endémica) | 50 cm | Protección especial |
| | <i>Agave potatorum</i> | Centro-Sur de México | 70 cm | Peligro de extinción |
| | <i>Agave victoria-reginae</i> | Norte México (endémica) | 30 cm | Peligro de extinción |
| | <i>Agave titanota</i> | Sur de México (endémica) | 50 cm | Protección especial |
| | <i>Agave salmiana</i> | Occidente y sur de México | 2 m | Peligro de extinción |
| | <i>Beaucarnea goldmanii</i> | México y Centro América (endémica) | 15 m | Amenazada |
| | <i>Beaucarnea recurvata</i> | Sur y sureste de Estados Unidos hasta México, Guatemala, Belice y Honduras | 10 m | Amenazada |

| | | | | |
|-----------|---|--|-------|-----------------------------------|
| | <i>Dasyllirion acrotriche</i> | México (endémica) | 2 m | Amenazada |
| | <i>Dasyllirion glaucophyllum</i> | México (endémica) | 2 m | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Nolina durangensis</i> | Estados Unidos, México y Centro América (endémica) | 1.5 m | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Yucca carnerosana</i> | Norte de México (endémica) | 5 m | Peligro de extinción |
| | <i>Yucca filamentosa</i> | Estados Unidos | 9 m | Peligro de extinción |
| | <i>Yucca filifera</i> | Norte y centro de México (endémica) | 10 m | Peligro de extinción |
| Cactaceae | <i>Echinocereus ferreirianus var lindsayi</i> | Norte de México | 35 cm | Peligro de extinción |
| | <i>Echinocereus knippelianus</i> | México (endémica) | 10 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> | México | 3 m | Amenazada |
| | <i>Echinocereus spinigemmatum</i> | Centro de México | 35 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Echinocereus triglochidiatus</i> | Estados Unidos y México | 80 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Ferocactus peninsulæ</i> | México | 60 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Hylocereus undatus</i> | América central | 50 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| | <i>Myrtillocactus cochal</i> | Norte de México (endémica) | 3 m | Amenazada |

| | | | |
|------------------------------------|--|-------|-----------------------------------|
| <i>Myrtillocactus geometrizans</i> | Norte y Centro de México (endémica) | 5 m | Amenazada |
| <i>Opuntia amyclaea</i> | México | 1.5 m | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Opuntia basilaris</i> | México | 6 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Opuntia cochenillifera</i> | México y Centro América | 4 m | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Opuntia ficus - Indica</i> | Estados Unidos y México | 6 m | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Opuntia macrocentra</i> | Estados Unidos y México | 90 cm | Protección especial |
| <i>Opuntia robusta</i> | México | 7 m | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Peniocereus greggii</i> | Estados Unidos y México | 30 m | Protección especial |
| <i>Pereskia sacharosa</i> | México, Brasil, Paraguay, Bolivia y Argentina. | 5 m | Amenazada |
| <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> | Sur de México (endémica) | 5 m | Especie en riesgo |
| <i>Polaskia chichipe</i> | México (endémica) | 5 m | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Selenicereus validus</i> | México (endémica) | 20 cm | Bajo ningún régimen de protección |
| <i>Stenocereus queretaroensis</i> | México (endémica) | 6 m | Bajo ningún régimen de protección |

Las familias Asparagacea y Cactaceae son plantas de crucial importancia para nuestro país, sin embargo, crecen muy lento y existe gran variabilidad de las semillas, lo cual dificulta la propagación masiva por métodos convencionales (Escobar *et al.*, 1986). Una acción deseable para salvaguardar las especies mexicanas es mejorar o desarrollar nuevas y eficientes técnicas

de propagación. Durante los últimos años, las técnicas de cultivo *in vitro* se han convertido en un medio eficaz y rápido de propagación asexual de plantas (Pérez *et al.*, 1998).

2.6 Cultivo *in vitro*, ventajas de usar este sistema

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales o la micropropagación como comúnmente se le conoce, tiene la capacidad de regenerar una planta entera en condiciones estériles en un entorno controlado, para producir clones de la planta madre en periodos cortos de tiempo (Akin-Idowu *et al.*, 2009). En el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, el término totipotencia se refiere a la habilidad de dividir y diferenciar una planta completa incluyendo nuevos tipos de tejidos. Esta propiedad de las células del parénquima es importante en la cicatrización de heridas y en la reproducción asexual. Cuando las concentraciones de auxinas y citocininas son iguales, las células del parénquima desarrollan callo; altas concentraciones de auxinas y bajas de citocininas producen raíz; concentraciones relativamente bajas de auxina y altas de citocininas reproducen brotes (Johri y Mitra, 2001).

La morfogénesis es la organización de la estructura de tejidos y órganos y existen tres vías diferentes para la regeneración de plantas: a) Brotación y proliferación de yemas, b) Organogénesis y c) Embriogénesis somática (Pérez, 1999). A partir de la siembra *in vitro* de diferentes explantes en condiciones óptimas, puede inducirse la formación de nuevos órganos de manera directa sin la formación de callo. Si la formación es de brotes, raíces o flores se denomina organogénesis directa. Si en cambio se induce la formación de embriones somáticos, este proceso se denominará embriogénesis directa (Levitus *et al.*, 2010).

Se consideran cinco etapas para la propagación *in vitro*. Etapa 0: selección de las plantas donantes y acondicionamiento de la planta madre, esta fase es importante por las características que debe tener la planta que servirá para la micropropagación. Etapa I: establecimiento aséptico, en esta etapa se debe emplear tejido fresco, establecerlo *in vitro* y mantenerlo vivo sin contaminar. Es importante elegir un medio de cultivo óptimo y adicionarlo con vitaminas. Etapa II: multiplicación de brotes, esta etapa es importante, para

el incremento de órganos o estructuras, y que se obtiene mediante el uso de hormonas adicionadas al medio de cultivo. Etapa III: enraizamiento, consiste en inducir raíz y también se utilizan las hormonas, es bien conocido que las auxinas son un factor esencial para el crecimiento de raíces y la etapa IV: transferencia a su ambiente natural, lo que comprende la aclimatación gradual en invernadero y luego en campo (Pollard y Walker, 1990; Cancino-Escalante *et al.*, 2015).

La elección de un medio de cultivo adecuado para la especie y tipo de explante, determina en gran medida el éxito o fracaso de los cultivos *in vitro*. En teoría los requerimientos nutricionales de los tejidos vegetales cultivados *in vitro*, deben ser similares a los que se presentan en la planta completa bajo condiciones normales, pero existen algunas diferencias: los tejidos vegetales cultivados *in vitro* no son autótrofos, ya que su tasa fotosintética es muy baja, por lo tanto requieren de la adición de una fuente de carbono orgánico en el medio para subsistir, también requieren de algunas sustancias orgánicas que en condiciones normales la planta es capaz de producir, como la tiamina, que deben adicionarse al medio de cultivo. Actualmente el medio de cultivo más utilizados es MS (Murashige y Skoog, 1962), se usa cuando el objetivo es la regeneración *in vitro* de plantas (Pérez-Molphe-Balch y Ramirez, 1999).

Es necesario adicionar hormonas al medio de cultivo para inducir brote o raíz. Existen cinco grupos de hormonas: auxinas, citocininas, ácido giberélico, ácido abscísico y etileno. Las hormonas están presentes en las plantas en pequeñas concentraciones. En el cultivo de tejidos vegetales se utilizan más las primeras dos, auxinas y citocininas. Las auxinas promueven el desarrollo de raíces y las citocininas en combinación con las auxinas regulan la morfogénesis (Kende y Zeevaart, 1997).

Las ventajas que ofrece con respecto a los métodos convencionales son: a) Es un sistema de propagación clonal debido a que mantiene todas las características genotípicas del material inicial, b) Se trata de un sistema independiente de las condiciones externas, por lo que no se ve afectado por las estaciones del año, sequías, heladas, altas temperaturas u otros factores ambientales, c) Se pueden obtener muchas plantas en espacios reducidos, y d) Las plantas

que se obtienen están libres de bacterias, hongos, y nematodos fitopatógenos (Domínguez *et al.*, 2008).

Los métodos de propagación *in vitro*, se consideran técnicas valiosas para la conservación de recursos fitogenéticos en extinción (Ruvalcaba *et al.*, 2010). Para la propagación *in vitro* de plantas de zonas áridas se recomienda el medio de cultivo (MS) (1962), para su propagación masiva se recomienda el regulador de crecimiento benciladenina (BA) y en la etapa de enraizamiento ácido índol butírico (IBA), entre otros reguladores de crecimiento (Domínguez *et al.*, 2008).

En los últimos años, diversas especies de las zonas áridas han sido propagadas por medio de estas técnicas y se han tenido avances significativos por lo que se está aplicando en nuestro país. Estos trabajos han demostrado que es factible su propagación masiva por la vía de organogénesis directa (López-Escamilla, 2005). Reyes *et al.* (2013) lograron la propagación masiva *in vitro* de *Beaucarnea goldmanii*, *Nolina durangensis* y *Nolina longifolia*. En cuanto a las citocininas probadas, BA resultó las más eficiente y los brotes regenerados enraizaron satisfactoriamente.

3. Justificación

En las zonas donde se ha desarrollado la minería, se ha perdido la cubierta vegetal y se ha destruido el suelo debido a la contaminación por metales. El presente trabajo pretende evaluar la tolerancia a Cd^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} así como su acumulación en diversos tejidos, en varias especies de plantas de zonas áridas y semiáridas de México. Esto con el fin de seleccionar las especies más tolerantes que pudieran ser utilizadas en la restauración de áreas contaminadas. El estudio se realizó *in vitro*, y con especies de plantas cuyo sistema de propagación masiva ha sido previamente desarrollado. Esto permitió disponer de todo el material vegetal necesario durante el proyecto, y para posibles aplicaciones futuras del mismo, sin necesidad de coleccionar material de su hábitat natural. Se planteó un estudio de tipo exploratorio en el que se evaluó la respuesta ante varios metales del mayor número de especies posible. Se trabajó con el siguiente material:

- a) Familia Asparagaceae, varios géneros, al menos 20 especies.
- b) Familia Cactaceae, varios géneros, al menos 21 especies.

4. Hipótesis

Existen especies de plantas de zonas áridas y semiáridas que pueden propagarse *in vitro*, son tolerantes y acumulan metales. Esto pueden servir para seleccionar especies con la capacidad de sobrevivir en suelos contaminados.

5. Objetivo general

Evaluar *in vitro* la susceptibilidad a diferentes tipos y concentraciones de metales en plantas de zonas áridas y semiáridas.

5.1 Objetivos específicos

- I. Propagar *in vitro* plantas de las zonas áridas para la obtención de los brotes que se utilizaron en todas las fases del proyecto.
- II. Evaluar el efecto de la presencia de los metales Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb y Zn en el proceso de enraizamiento.
- III. Analizar el desarrollo y la morfología de los sistemas radicales generados *in vitro*, en presencia y ausencia de los metales pesados.
- IV. Cuantificar y evaluar las concentraciones de metales acumulados en la parte aérea y en el sistema radical de las plantas generadas *in vitro*.

6. Metodología

A continuación se muestra la metodología general que se realizó para el trabajo de investigación.

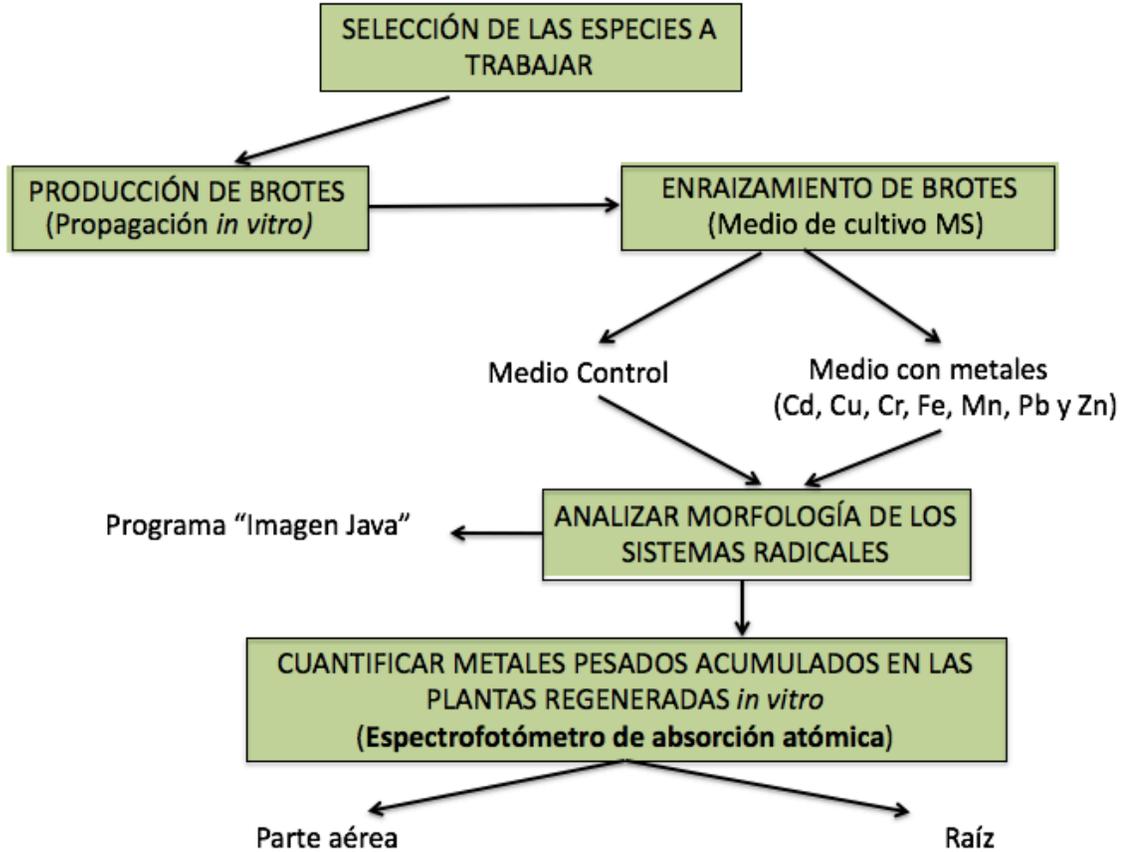


Figura 1: Esquema general de la metodología empleada

6.1 Material vegetal

El material vegetal para la propagación se tomó de las especies establecidas en el Banco de Germoplasma *in vitro* de la Unidad de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). Los protocolos para la propagación de estas especies han sido previamente desarrollados en ésta unidad. Se seleccionaron especies de talla mediana a grande para que tuvieran un mayor impacto de uso en la restauración de sitios contaminados (Cuadro 5).

Cuadro 5. Familias y especies seleccionadas del Banco de Germoplasma.

| Asparagaceae | Cactaceae |
|--|---|
| 1. <i>Agave bracteosa</i> S. Watson ex Engelm | 1. <i>Echinocereus ferreirianus</i> var <i>lindsayi</i> (J. Meyran) NP Taylor |
| 2. <i>Agave celsii</i> Hook. | 2. <i>Echinocereus knippelianus</i> Liebner |
| 3. <i>Agave chiapensis</i> Jacobi | 3. <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> (K. Brandegeee) J.A. Purpus |
| 4. <i>Agave difformis</i> A. Berger | 4. <i>Echinocereus spinigemmatum</i> A. B. Lau |
| 5. <i>Agave funkiana</i> K. Koch & C. D. Bouché | 5. <i>Echinocereus triglochidiatus</i> Engelman |
| 6. <i>Agave obscura</i> Schiede ex Schltdl. | 6. <i>Ferocactus peninsulae</i> (F. A. C. Weber) Britton & Rose |
| 7. <i>Agave palmeri</i> Engelm | 7. <i>Hylocereus undatus</i> (Haworth) Britton & Rose |
| 8. <i>Agave peacockii</i> Croucher | 8. <i>Myrtillocactus cochal</i> (Orcutt) Britton & Rose |
| 9. <i>Agave potatorum</i> Zucc. | 9. <i>Myrtillocactus geometrizans</i> (Martius) Console, |
| 10. <i>Agave victoria-reginae</i> T. Moore | 10. <i>Opuntia amyclaea</i> Tenore |
| 11. <i>Agave salmiana</i> Otto ex Salm-Dyck | 11. <i>Opuntia basilaris</i> Engelman & Bigelow |
| 12. <i>Agave titanota</i> Gentry | 12. <i>Opuntia cochenillifera</i> (Linnaeus) P. Miller |
| 13. <i>Beaucarnea goldmanii</i> Rose | 13. <i>Opuntia ficus-indica</i> (Linnaeus) P. Miller |
| 14. <i>Beaucarnea recurvata</i> Lem | 14. <i>Opuntia macrocentra</i> Engelman |
| 15. <i>Dasyilirion acrotriche</i> (Shiede) Zucc. | 15. <i>Opuntia robusta</i> HL Wendland |
| 16. <i>Dasyilirion glaucophyllum</i> Hook. | 16. <i>Peniocereus greggii</i> (Engelman) Britton & Rose, |
| 17. <i>Nolina durangensis</i> Trel. | 17. <i>Pereskia sacharosa</i> Grisebach |
| 18. <i>Yucca carnerosana</i> Trel. Mckelvey | 18. <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley, |
| 19. <i>Yucca filamentosa</i> L. | 19. <i>Polaskia chichipe</i> (Roland-Gosselin) Backeberg |
| 20. <i>Yucca filifera</i> Chabaud | 20. <i>Selenicereus validus</i> S. Arias & U. Guzmán |
| | 21. <i>Stenocereus queretaroensis</i> (F.A.C. Weber) Buxbaum |

6.2 Propagación *in vitro*

Se propagaron 41 plantas nativas de las zonas áridas y semiáridas en condiciones *in vitro*. El material vegetativo seleccionado para el presente estudio, se multiplicó, utilizando el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) (1962) descrito en el Cuadro 6.

**Cuadro 6. Medio Murashige y Skoog.
Soluciones Stock**

| Solución | Preparar | Fórmula | Cantidad |
|-----------------|--|--|--------------------|
| A | 1000 X para 50ml Cloruro de calcio | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 22 g |
| B | 1000 X para 50 ml Yoduro de potasio | KI | 41.5 mg |
| | Cloruro de cobalto | $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 1.25 mg |
| C | 400 X para 50 ml Fosfato monobásico de potasio | KH_2PO_4 | 3.40 g |
| | Ácido Bórico | H_3BO_3 | 0.124 g |
| | Molibdato de sodio | NaMoO_4 | 5 mg |
| D | 400 X para 50 ml Sulfato de magnesio | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 7.40 g |
| | Sulfato de manganeso | | |
| | Sulfato de zinc | $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0.34 g |
| | Sulfato de cobre | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.172 g 0.50 mg |
| E | 200 X para 100 ml Sulfato ferroso | $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.557 g |
| | E.D.T.A. Disodico | | 0.745 g |
| | NOTA. Disolver por separado y en caliente, agregar poco a poco la solución de fierro a la EDTA y aforar. | | |

| | | |
|---|--|--------|
| F | 100 X para 100 ml (Solución de vitaminas MS) | |
| | Glicina | 20 mg |
| | Piridoxina HCl | 5 mg |
| | Ácido nicotínico | 5.1 mg |
| | Tiamina HCl | 1 mg |
| | Inositol | 1 g |
| Sacarosa 30 g Nitrato de potasio (KNO₃) 1.9 g y Nitrato de amonio (NH₄NO₃) 1.65 g | | |

Se usaron plántulas generadas *in vitro*, para la familia Asparagaceae se eliminó la parte apical de las hojas y las raíces para obtener un explante basal y para la familia Cactaceae se llevó a cabo mediante la activación de areolas. Los explantes fueron seccionados a una longitud de 0.5 a 1 cm. En frasco de 250 ml se colocaron cuatro explantes en medio de cultivo MS. El pH en el medio de cultivo se mantuvo a 5.7. Las condiciones ambientales del cuarto de incubación del laboratorio fueron a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad. El medio de cultivo fue suplementado con Benciladenina (BA) utilizado en las concentraciones descritas en el Cuadro 7 para la multiplicación *in vitro* de las especies. Para la asepsia se utilizó una campana de flujo laminar Cemlab y un esterilizador GerminadorTM 500.

Cuadro 7. Medio de cultivo para la inducción de brotes.

| Material vegetal | Medio de cultivo |
|---|---|
| 1. Asparagaceae (<i>Agave</i> y <i>Yucca</i>) | 2 mg L ⁻¹ de Benciladenina y 8 g L ⁻¹ de agar |
| 2. Asparagaceae (<i>Beaucarnea</i> , <i>Dasylyrion</i> y <i>Nolina</i>) | 2.5 mg L ⁻¹ de Benciladenina y 8 g L ⁻¹ de agar |
| 3. Cactaceae | 1 mg L ⁻¹ de Benciladenina y 10 g L ⁻¹ de agar |

Se calculó la tasa de multiplicación potencial para cada especie con base a los resultados obtenidos de un ciclo de cultivo de un solo explante, tomando los subcultivos para la proliferación del segundo y tercer ciclo. Las variables evaluadas fueron número de brotes por explante y longitud de la plántula. Los datos se registraron a los tres meses, con una n=16. Se calculó media y desviación estándar.

6.3 Efectos de los metales pesados en las plantas durante la etapa de enraizamiento

Algunos de los metales a evaluar son micronutrientes presentes en el medio de cultivo como Cu (0.0001 mM), Fe (0.1 mM), Mn (0.1 mM) y Zn (0.03 mM); su toxicidad suele presentarse cuando se encuentran en concentraciones mayores a las presentes en el medio de cultivo MS. Otros de los metales a evaluar no son micronutrientes, por lo que no están presentes de manera normal en los medios de cultivo Cd, Cr y Pb.

Se seleccionaron en total siete metales, cuatro micronutrientes Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} y tres que no están presentes en el medio de cultivo Cd^{2+} , Cr^{6+} y Pb^{2+} .

En el Cuadro 8 se muestran las concentraciones de las sales de los metales que se evaluaron en el proceso de enraizamiento y su grado de pureza, eligiendo las concentraciones más altas de los rangos manejados en la literatura (Ayari *et al.*, 2010; Molero *et al.*, 2008; Ramos-Gómez *et al.*, 2012).

Cuadro 8. Tratamientos de las sales de los metales adicionados al medio de cultivo para la evaluación del efecto en la formación de raíces.

| Pureza | Sal del metal | Concentración |
|--------|---|---------------|
| 98% * | CdCl_2^1 | 0.005 mM |
| 98% | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}^1$ | 0.2 mM |
| 99.5% | $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7^2$ | 1 mM |
| 99% | $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}^2$ | 1 mM |
| 99% | $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}^1$ | 1.6 mM |
| 99% | $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2^2$ | 0.4 mM |
| 99% | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}^1$ | 0.48 mM |

*Grado de reactivo analítico 1 = PhytoTechnology Laboratories 2 = SIGMA Aldrich

Se evaluó la supervivencia de las plantulas en presencia y ausencia del metal pesado. Se realizó un diseño completamente al azar. Los datos se registraron a los dos meses de establecidos con una n=9. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba Dunnet con una nivel de significancia del 95% con el paquete estadístico GraphPad Prism version 7.09.

Para analizar el efecto tóxico de las plantas ante el medio de cultivo con metales pesados durante el proceso de enraizamiento se usó una escala subjetiva con cuatro categorías:

 : sin efecto (planta viva, tejido aparentemente sano, sin deterioro en ambos limbos foliares)

 : efecto mínimo (planta viva con menor desarrollo, sin pérdida severa de color verde)



: efecto medio (planta con señales de clorosis, la planta puede recuperarse) y



: efecto grave (planta con clorosis, necrosada o muerta).

El número de plantas se cuantificó considerando que un brote afectado era el que mostraba al menos el 50% de daño. n=9.

6.4 Morfología del sistema radical de las plantas de zonas áridas propagadas *in vitro*

Se evaluó la morfología de las raíces de forma periódica en todos los tratamientos para poder realizar una comparación entre el tratamiento control contra los siete tratamientos con metales pesados. En esta etapa se cuantificó la supervivencia de las plantas considerando como planta viva a aquella que no se observó afectada por los tratamientos con metales pesados, partiendo del tratamiento control como 100%.



Figura 2. *Agave celsii* propagado *in vitro* dividido en parte aérea y raíz.

Se utilizó el programa Imagen Java versión 1.46, para calcular el área de las raíces desarrolladas de las 41 especies, con el tratamiento control y los siete tratamientos con metales pesados, con una $n=3$. Todas las fotografías fueron tomadas a la misma altura 50 cm con un trípode y en las mismas condiciones de luz y tamaño ajustadas de la cámara y con una cámara SONY, Zoom 8x y 20.1 megapixels.

6.5 Cuantificación de los metales pesados

Se eligieron 14 especies las que presentaron raíz en todos los tratamientos, el control y los que contenían metales pesados Cd^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Fe^{+2} , Mn^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} . *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. palmeri*, *A. salmiana*, *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe*.

Para la parte aérea y raíz (tejido vegetal) se utilizó un equipo de liofilización Freezezone® 4.5 Labconco y para homogenizar las muestras se usó el equipo TissueLyser II QIA GEN®. Se realizaron controles de calidad que consistieron en un blanco, estándar (metal conocido), fortificado (metal conocido + muestra), no fortificado, duplicado uno y duplicado dos. La mezcla ácida de digestión contenía 120 ml de H₂O destilada, 130 ml de HCl concentrado Instra y 84 ml de HNO₃ concentrado Instra. La mezcla de HNO₃ 8.8% contenía 2 gramos de cloruro de potasio, 125 ml de HNO₃ concentrado Instra y se aforó a un litro. La cuantificación de metales pesados se realizó por espectrofotometría de absorción atómica en la modalidad flama, usando un equipo PerkinElmer 100 con lámparas de cátodo hueco (PineAACLE900H). Todas las determinaciones analíticas se desarrollaron utilizando los siguientes controles de calidad: muestra fortificada al azar (porcentaje de recuperación entre 85 y 115%), duplicados azar (coeficiente de variación menor al 15%) y el uso de patrones de referencia (Figura 3).

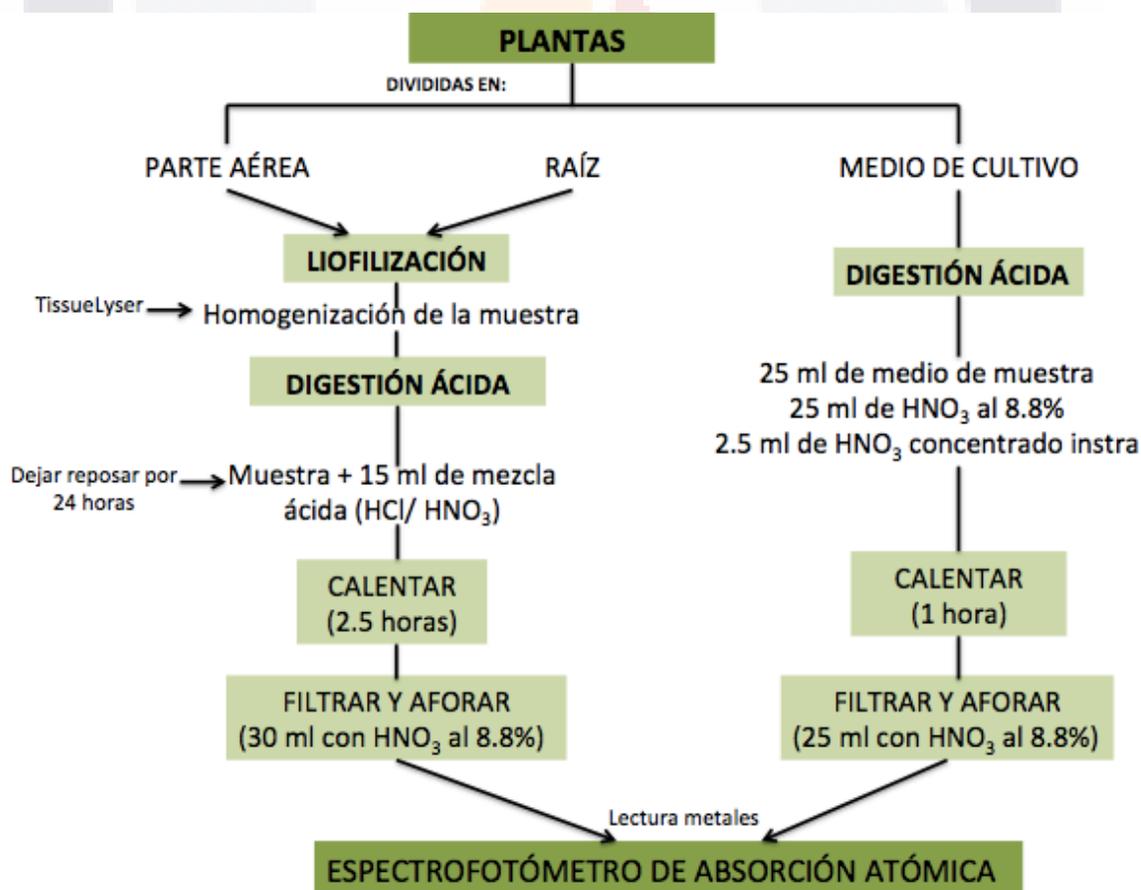


Figura 3. Esquema de la metodología para cuantificación de metales pesados.

En el Cuadro 9 se muestran las concentraciones de los metales que se utilizaron para los estándares.

Cuadro 9. Concentración de los metales en el estándar.

| Metal | Volumen |
|------------------|------------|
| Cd ²⁺ | SLM 300 µL |
| Cr ⁶⁺ | SLM 300 µL |
| Cu ²⁺ | SLM 600 µL |
| Fe ²⁺ | SLM 300 µL |
| Mn ²⁺ | SLM 300 µL |
| Pb ²⁺ | SP 300 µL |
| Zn ²⁺ | 1.8 ml |

SLM = solución madre, SL1= Solución 1, SP= Estándar primario.

El medio de cultivo se cuantificó solo para corroborar la concentración de cada tratamiento que se añadió.

El factor de translocación (TF) se calculó de la siguiente manera (Ali y Chaudhury *et al.*, 2016, Chang-Kee *et al*, 2018):

$$\text{Factor de translocación} = \frac{\text{concentración metal parte aérea}}{\text{concentración metal raíz}}$$

El factor de biacumulación (BAC) para la parte aérea se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Factor de bioacumulación} = \frac{\text{concentración metal parte aérea}}{\text{concentración metal en el medio de cultivo}}$$

El factor de bioacumulación para la raíz se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Factor de bioacumulacion} = \frac{\text{concentración metal raíz}}{\text{concentración metal en el medio de cultivo}}$$

Si el TF > 1, la planta es hiperacumuladora, quiere decir que traslada eficazmente los metales pesados de la raíz a la parte aérea de la planta, si el TF < 1 es fitoestabilizadora, la planta acumula la mayor cantidad de metales pesados en la raíz. Si el BAC < 1 es exclusiva, restringe la acumulación de metales pesados en la raíz y se categorizó como indicadora si la concentración del metal fue similar a la que se añadió al medio de cultivo (Ashraf *et al.*, 2011).

7. Resultados y discusión

7.1 Propagación *in vitro*

Se establecieron las 41 especies en la etapa de multiplicación, las cuales presentaron suficiente número de brotes para ser establecidos en la etapa de enraizamiento, como se observa más adelante. En la Figura 4 se presentan los explantes meristemáticos y la longitud a la que fueron seccionados.

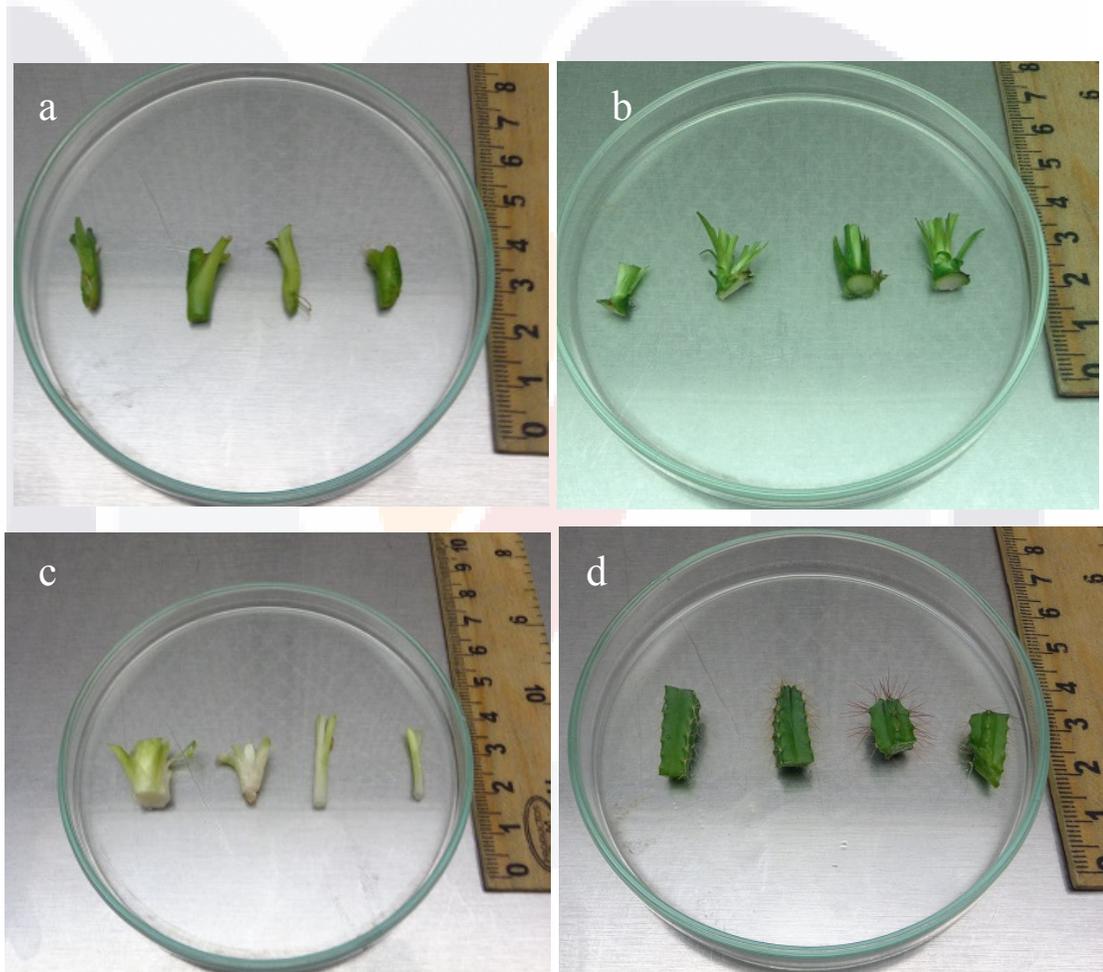
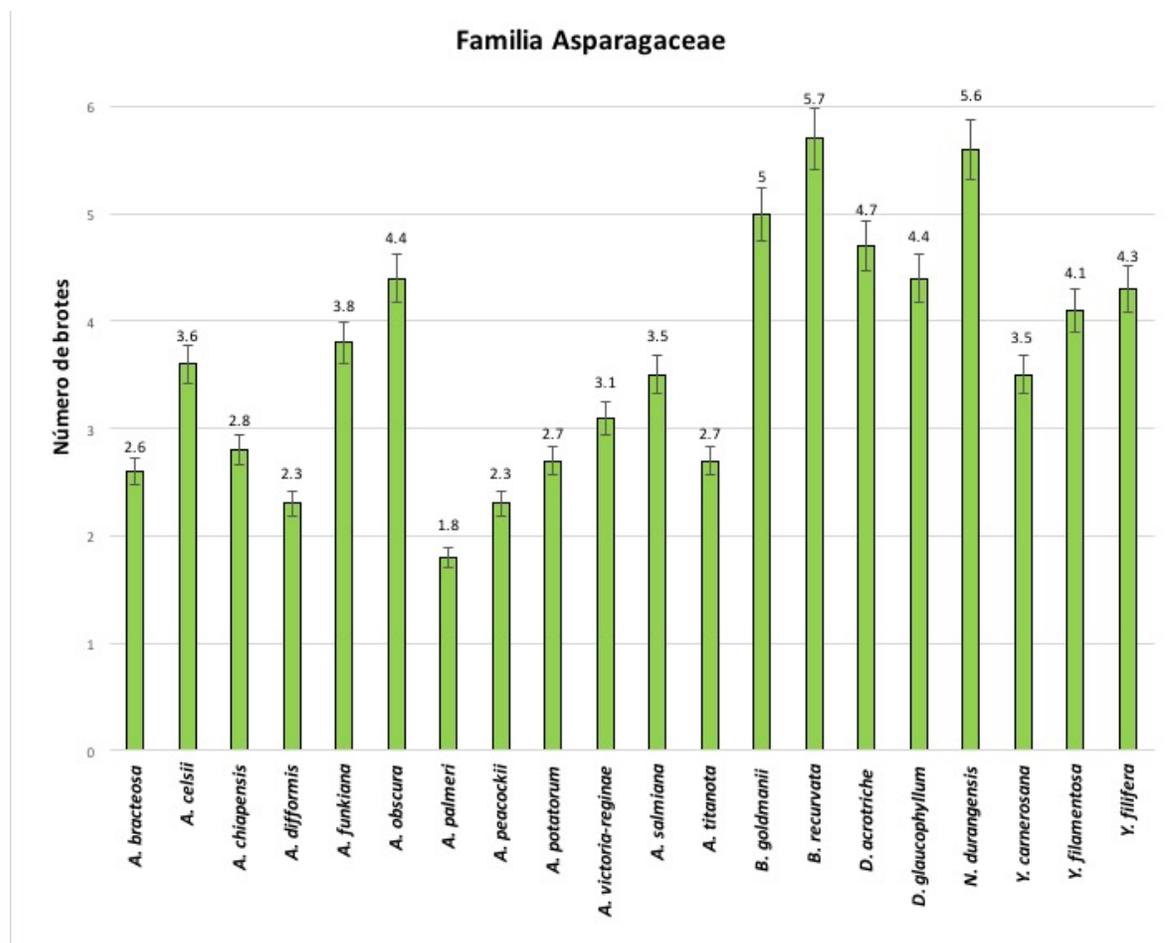


Figura 4. Longitud de los explantes de: a) *Agave palmeri*, b) *Beaucarnea goldmanii*, c) *Yucca carnerosana* y d) *Stenocereus queretaroensis*.

El medio de cultivo MS (1962) es reportado como el medio óptimo para la obtención del mayor número de brotes por explante de plantas propagadas *in vitro* (Ahmad *et al.*, 2014). En la Gráfica 1 se muestran los resultados de número de brotes por explante de la Familia Asparagaceae.



Gráfica 1: Promedio de brotes por explante de las especies de la familia Asparagaceae.

La especie *B. recurvata* y *N. durangensis*, obtuvieron 6 brotes por explante. *B. goldmanii* y *D. acrotriche*, presentaron 5 brotes por explante y *D. glaucophyllum* 4 brotes por explante. *A. funkiana* obtuvo 4 brotes por explante. Los rangos óptimos para la propagación masiva reportado para el género *Agave* van de 1 a 2 mg L⁻¹ de BA (Domínguez *et al.*, 2008). Se propagaron *in vitro* *B. goldmanii*, *B. recurvata* y *N. durangensis* utilizando 3 mg L⁻¹ de BA

en medio MS se obtuvieron hasta 10 brotes por explante (Reyes *et al.*, 2013). Las especies *Y. filamentosa* y *Y. filifera* generaron 4 brotes por explante. Karpov (2004) trabajó con la especie *Yucca aloifolia* L., la cual propagó en medio de cultivo MS adicionado con 1.5 mg L⁻¹ de BAP obteniendo de 7 a 8 brotes por explante. La mayor formación de raíces fue con 1 mg L⁻¹ de IBA.

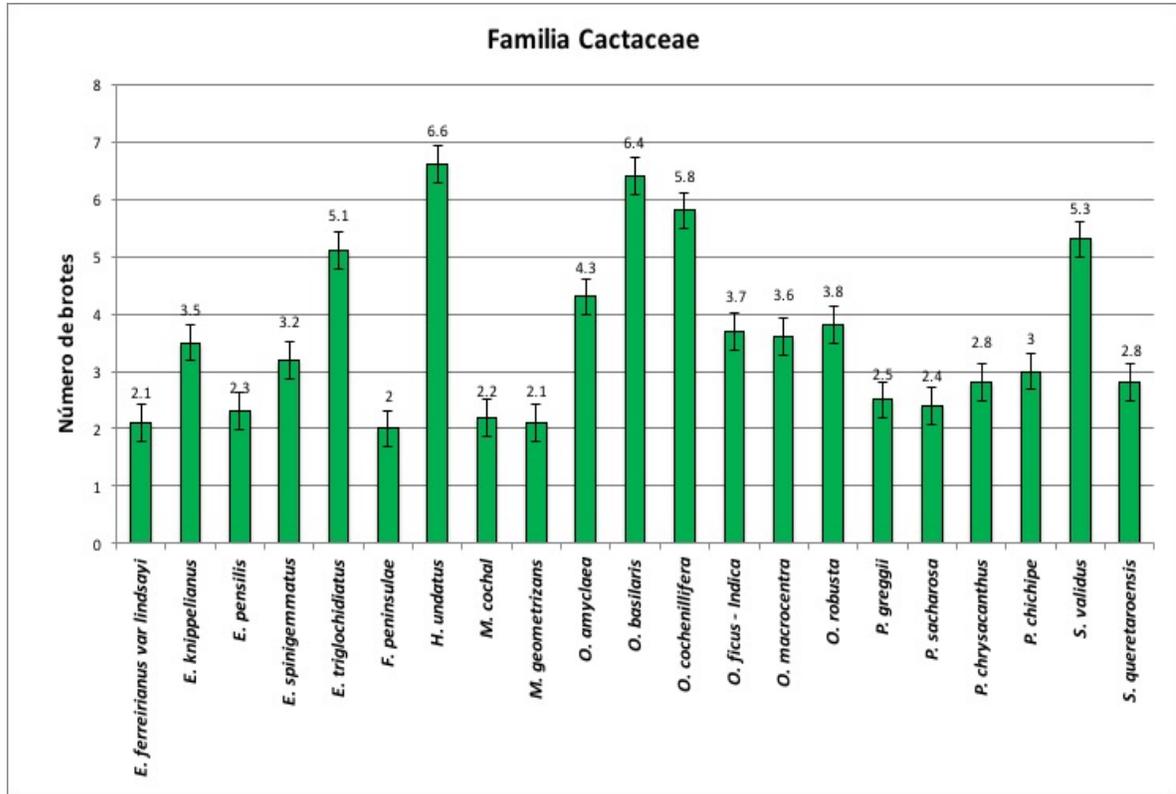
En el Cuadro 10 se presentan los resultados de la tasa de multiplicación potencial de cada una de las especies evaluadas. La tasa de multiplicación potencial nos da una idea de la producción de brotes aunque los resultados podrían ser mayores.

Cuadro 10. Tasa de multiplicación potencial con base a los resultados obtenidos de la familia Asparagacea.

| Especie | Subcultivo 1 | Subcultivo 2 | Subcultivo 3 |
|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <i>A. bracteosa</i> | 13.52 | 70.30 | 365.58 |
| <i>A. celsii</i> | 25.92 | 186.62 | 1343.69 |
| <i>A. chiapensis</i> | 15.68 | 87.81 | 491.72 |
| <i>A. difformis</i> | 10.58 | 48.67 | 223.87 |
| <i>A. funkiana</i> | 28.88 | 219.49 | 1668.11 |
| <i>A. obscura</i> | 38.72 | 340.73 | 2998.48 |
| <i>A. palmeri</i> | 6.48 | 23.33 | 83.99 |
| <i>A. peacockii</i> | 10.58 | 48.67 | 223.87 |
| <i>A. potatorum</i> | 14.58 | 78.73 | 425.15 |
| <i>A. victoria-reginae</i> | 19.22 | 119.16 | 738.82 |
| <i>A. salmiana</i> | 24.5 | 171.50 | 1200.50 |
| <i>A. titanota</i> | 14.58 | 78.73 | 425.15 |
| <i>B. goldmanii</i> | 50 | 500 | 50000 |
| <i>B. recurvata</i> | 64.98 | 740.77 | 96270.73 |
| <i>D. acrotriche</i> | 44.18 | 415.30 | 36695.20 |
| <i>D. glaucophyllum</i> | 38.72 | 340.74 | 26386.60 |
| <i>N. durangensis</i> | 62.72 | 702.46 | 88117.08 |
| <i>Y. carnerosana</i> | 24.5 | 171.50 | 1200.50 |

| | | | |
|-----------------------|-------|--------|---------|
| <i>Y. filamentosa</i> | 33.62 | 275.68 | 2260.61 |
| <i>Y. filifera</i> | 36.98 | 318.03 | 2735.04 |

En la familia Cactaceae, *H. undatus* obtuvo 7 brotes por explante, *O. basilaris* con 6 brotes por explante. La especie *F. peninsulæ* con 2 brotes por explante (Gráfica 2).



Gráfica 2. Promedio de brotes por explante de las especies de la familia Cactaceae.

En el caso de la familia Cactacea la especie *P. greggii* produjo 3 brotes por explante con 1 mg L⁻¹ BA. En un estudio *Peniocereus greggii* se propagó *in vitro* con la adición de 4 mg L⁻¹ BA induciendo 3 brotes en promedio y en la etapa de enraizamiento con 2 mg L⁻¹ IBA, siendo éste el medio óptimo (Cortés *et al.*, 2008). Retes-Pruneda *et al.* (2007) propagaron *in vitro* cactáceas, evaluando dos citocininas Isopenteniladenina (2ip) y BA, especies como *Echinocereus knippelianus*, y *Polaskia chichipe* respondieron significativamente a los tratamientos con BA. Utkarsha *et al.* (2010) reportan que al añadir BA (5 mg L⁻¹) a altas

concentraciones en el medio MS, para la propagación masiva de *O. ficus-indica*, se tiene mayor número de brotes por explante.

En el Cuadro 11 se muestran los resultados de la tasa de multiplicación potencial de cada una de las especies evaluadas.

Cuadro 11. Tasa de multiplicación potencial con base a los resultados obtenidos de la familia Cactaceae.

| Especie | Subcultivo 1 | Subcultivo 2 | Subcultivo 3 |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| <i>E. ferreirianus</i> var <i>lindsayi</i> | 8.82 | 37.04 | 155.58 |
| <i>E. knippelianus</i> | 24.5 | 171.50 | 1200.50 |
| <i>E. pensilis</i> | 10.58 | 48.67 | 223.87 |
| <i>E. spinigemmatius</i> | 20.48 | 131.07 | 838.86 |
| <i>E. triglochidiatus</i> | 52.02 | 530.60 | 5412.16 |
| <i>F. peninsulae</i> | 8 | 32 | 128 |
| <i>H. undatus</i> | 87.12 | 1149.98 | 15179.79 |
| <i>M. cochal</i> | 9.68 | 42.59 | 187.40 |
| <i>M. geometrizzans</i> | 8.82 | 37.044 | 155.58 |
| <i>O. amyclaea</i> | 36.98 | 318.03 | 2735.04 |
| <i>O. basilaris</i> | 81.92 | 1048.58 | 13421.77 |
| <i>O. cochenillifera</i> | 67.28 | 780.45 | 9053.20 |
| <i>O. ficus - Indica</i> | 27.38 | 202.61 | 1499.33 |
| <i>O. macrocentra</i> | 25.92 | 186.62 | 1343.69 |
| <i>O. robusta</i> | 28.88 | 219.49 | 1668.11 |
| <i>P. greggii</i> | 12.5 | 62.50 | 312.50 |
| <i>P. sacharosa</i> | 11.52 | 55.30 | 265.42 |
| <i>P. chrysacanthus</i> | 15.68 | 87.81 | 491.72 |
| <i>P. chichipe</i> | 18 | 108 | 648 |
| <i>S. validus</i> | 56.18 | 595.51 | 6312.38 |
| <i>S. queretaroensis</i> | 15.68 | 87.81 | 491.72 |

***Anexo A. Resultados de brotación etapa de multiplicación.**

Las especies fueron propagadas *in vitro* exitosamente (Figura 5) los brotes de las 41 especies fueron establecidos en la etapa de enraizamiento en todos los tratamientos con metales.

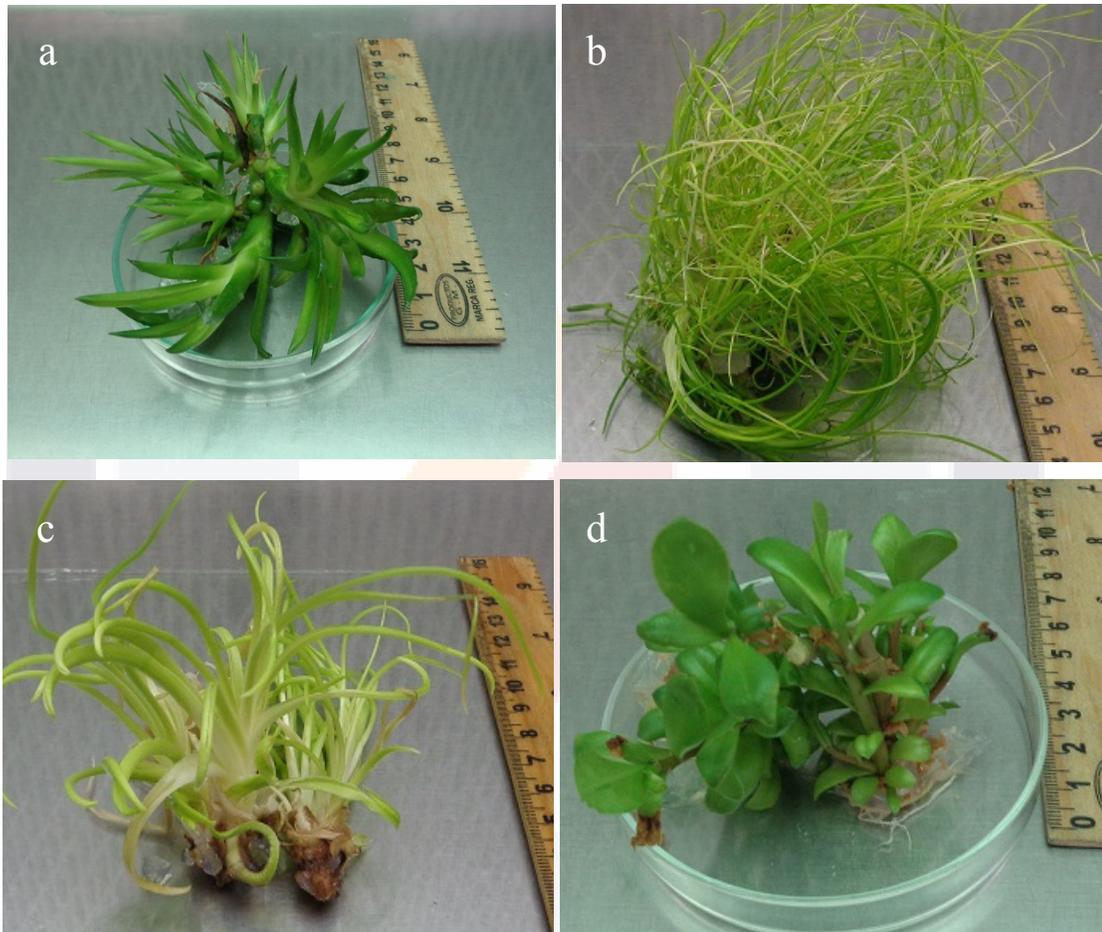


Figura 5. Aspectos de la generación de brotes en: a) *Agave salmiana*, b) *Dasyilirion glaucophyllum*, c) *Yucca carnerosana* y d) *Pereskia sacharosa*.

Se mantuvieron las condiciones artificiales reguladas durante la evaluación de las especies. Las hormonas, el fotoperiodo y la temperatura son un disparador de la respuesta morfo genética en la propagación masiva de plantas *in vitro* (Téllez, 2012).

7.2 Efectos de los metales pesados en las plantas durante la etapa de enraizamiento

Los brotes se subcultivaron en medio MS para la inducción de raíz y añadió el metal pesado. En la Figura 6 se muestran la longitud de los brotes.

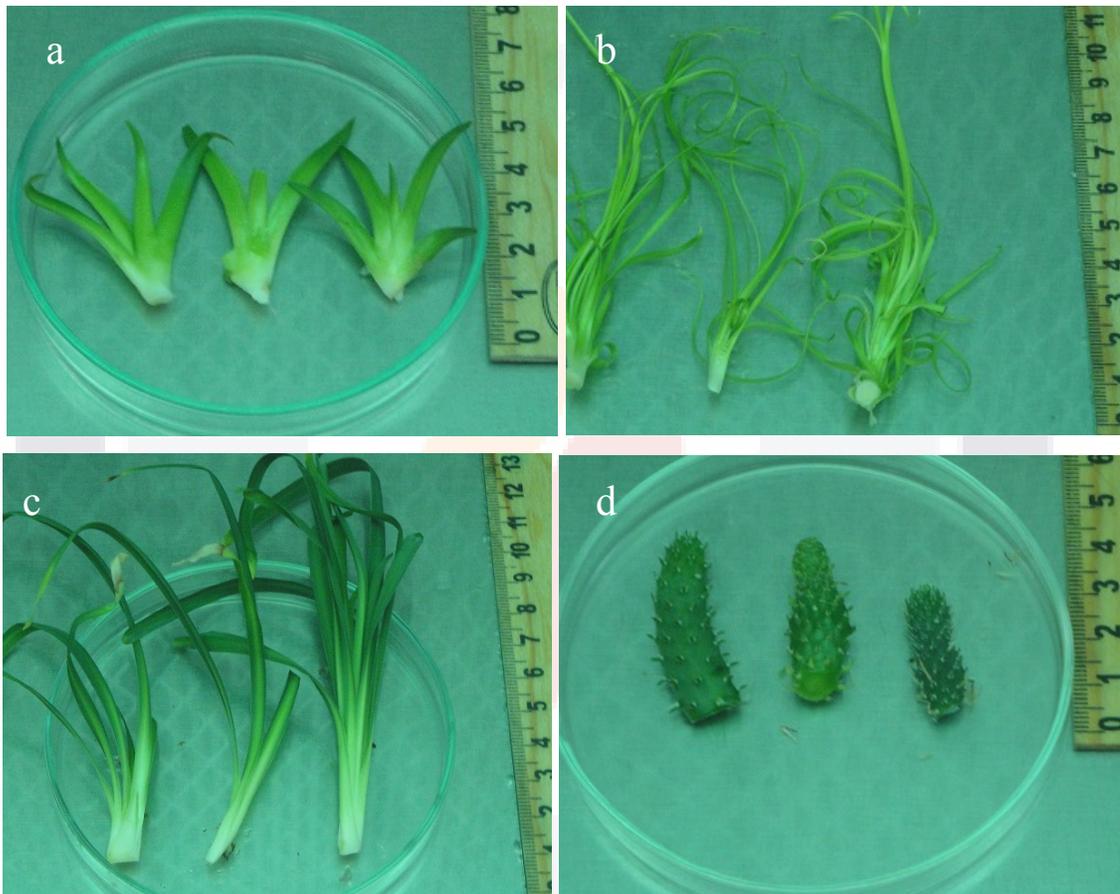


Figura 6. Brotes para la inducción de raíz a) *Agave titanota* b) *Dasylirion acrotriche* c) *Yucca filamentosa* y d) *Opuntia ficus-indica*.

*Anexo B. Presencia y/o ausencia de brote y raíz de las 41 especies.

*Anexo C. Longitud de la parte aérea de las plantas.

Se observó el efecto tóxico durante el proceso de enraizamiento de las 41 especies establecidas expuesta a metales pesados. Las especies *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. difformis*, *A. titanota*, *B. recurvata*, *D. acrotriche*, *D. glaucophyllum*, *N. durangensis* y *Y. filifera* no toleraron el tratamiento con Cr, presentando un efecto grave. En la minería, la acumulación de metales, provoca en las plantas, inhibición del crecimiento, clorosis y necrosis. La exclusión es característica de especies sensibles y tolerantes a metales, y la acumulación es común en especies resistentes, que se desarrollan en suelos contaminados (Prieto *et al.*, 2009). En el Cuadro 12 se muestran los resultados de los efectos ante la presencia de metales pesados.

Cuadro 12. Efectos tóxicos en las plantas por la presencia de los metales en el medio de cultivo.

| Familia | Control | Cd ²⁺ | Cu ²⁺ | Cr ⁶⁺ | Fe ²⁺ | Mn ²⁺ | Pb ²⁺ | Zn ²⁺ |
|----------------------------|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Asparagaceae | | | | | | | | |
| <i>A. bracteosa</i> | Yellow | Yellow | Green | Blue | Green | Blue | Blue | Blue |
| <i>A. celsii</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Red | Green | Green | Yellow | Yellow |
| <i>A. chiapensis</i> | Yellow | Yellow | Green | Red | Yellow | Yellow | Yellow | Yellow |
| <i>A. difformis</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Red | Yellow | Green | Yellow | Yellow |
| <i>A. funkiana</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Blue | Green | Yellow | Yellow | Yellow |
| <i>A. obscura</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Blue | Green | Yellow | Green | Yellow |
| <i>A. palmeri</i> | Yellow | Green | Yellow | Green | Yellow | Yellow | Yellow | Yellow |
| <i>A. peacockii</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Blue | Yellow | Yellow | Yellow | Yellow |
| <i>A. potatorum</i> | Yellow | Yellow | Yellow | Green | Yellow | Yellow | Green | Green |
| <i>A. victoria-reginae</i> | Yellow | Blue | Yellow | Blue | Yellow | Yellow | Yellow | Green |
| <i>A. salmiana</i> | Yellow | Yellow | Green | Blue | Yellow | Blue | Yellow | Green |
| <i>A. titanota</i> | Yellow | Yellow | Blue | Red | Yellow | Green | Yellow | Yellow |
| <i>B. goldmanii</i> | Yellow | Red | Green | Blue | Blue | Green | Blue | Yellow |
| <i>B. recurvata</i> | Yellow | Green | Green | Red | Green | Green | Blue | Green |
| <i>D. acrotriche</i> | Yellow | Blue | Green | Red | Blue | Green | Blue | Yellow |
| <i>D. glaucophyllum</i> | Yellow | Green | Green | Red | Red | Green | Blue | Yellow |
| <i>N. durangensis</i> | Yellow | Blue | Yellow | Red | Red | Blue | Red | Green |
| <i>Y. carnerosana</i> | Yellow | Blue | Green | Blue | Yellow | Green | Green | Green |

| | | | | | | | | |
|---|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <i>Y. filamentosa</i> | | | | | | | | |
| <i>Y. filifera</i> | | | | | | | | |
| Familia | Control | Cd²⁺ | Cu²⁺ | Cr⁶⁺ | Fe²⁺ | Mn²⁺ | Pb²⁺ | Zn²⁺ |
| Cactaceae | | | | | | | | |
| <i>E. ferreirianus</i> <i>var lindsayi</i> | | | | | | | | |
| <i>E. knippelianus</i> | | | | | | | | |
| <i>E. (Morangaya)</i> <i>pensilis</i> | | | | | | | | |
| <i>E. spinigemmatius</i> | | | | | | | | |
| <i>E. triglochidiatus</i> | | | | | | | | |
| <i>F. peninsulae</i> | | | | | | | | |
| <i>H. undatus</i> | | | | | | | | |
| <i>M. cochal</i> | | | | | | | | |
| <i>M. geometrizzans</i> | | | | | | | | |
| <i>O. amyclaea</i> | | | | | | | | |
| <i>O. basilaris</i> | | | | | | | | |
| <i>O. cochenillifera</i> | | | | | | | | |
| <i>O. ficus - Indica</i> | | | | | | | | |
| <i>O. macrocentra</i> | | | | | | | | |
| <i>O. robusta</i> | | | | | | | | |
| <i>P. greggii</i> | | | | | | | | |
| <i>P. sacharosa</i> | | | | | | | | |
| <i>P. chrysacanthus</i> | | | | | | | | |
| <i>P. chichipe</i> | | | | | | | | |
| <i>S. validus</i> | | | | | | | | |
| <i>S. queretaroensis</i> | | | | | | | | |

Cd = 0.005 mM Cu = 0.2 mM Cr = 1 mM Fe = 1 mM Mn = 1.6 mM Pb = 0.4 mM Zn = 0.48 mM

0: sin efecto, 1: efecto mínimo, 2: efecto medio y 3: efecto grave.

En la familia Cactaceae se observó más del 90% sin efecto, el género *Opuntia* fue en el que resistió la presencia de metales pesados en el medio de cultivo, ya que solo la especie *O. macrocentra* presentó efecto mínimo. Estas plantas tienen gran potencial para restaurar sitios contaminados por la minería. La relación de las especies y los metales pesados en el medio

de cultivo que no presentaron daños, sin efecto se consideran tolerantes, la planta es resistente ante la presencia del metal pesado, lo está bioacumulando; en efecto mínimo corresponden a ligeramente tolerantes, la planta puede absorber, transportar y concentrar el metal en sus tejidos, manifestando toxicidad leve pero pueden recuperarse ante el estrés; en efecto medio pertenece a moderadamente tolerantes, la planta tolera cierto grado de acumulación, sin manifestación de daño total y en las que se presentó efecto grave se consideran muy susceptibles ante la presencia de metales pesados, mostrando sensibilidad ante el tóxico y ocurre muerte temprana (Peláez *et al.*, 2014).

En la Figura 7 se observan algunos efectos de las especies estudiadas, entre los cuales se destacan clorosis, necrosamiento parcial y muerte total de la planta.

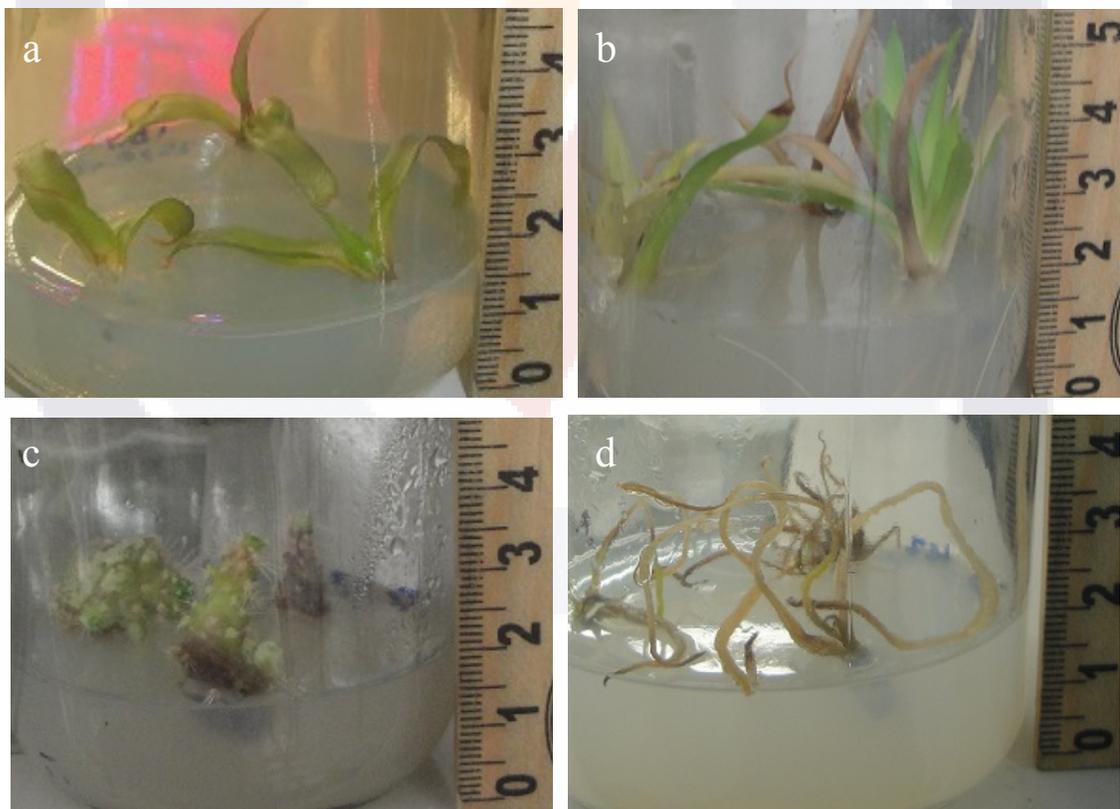
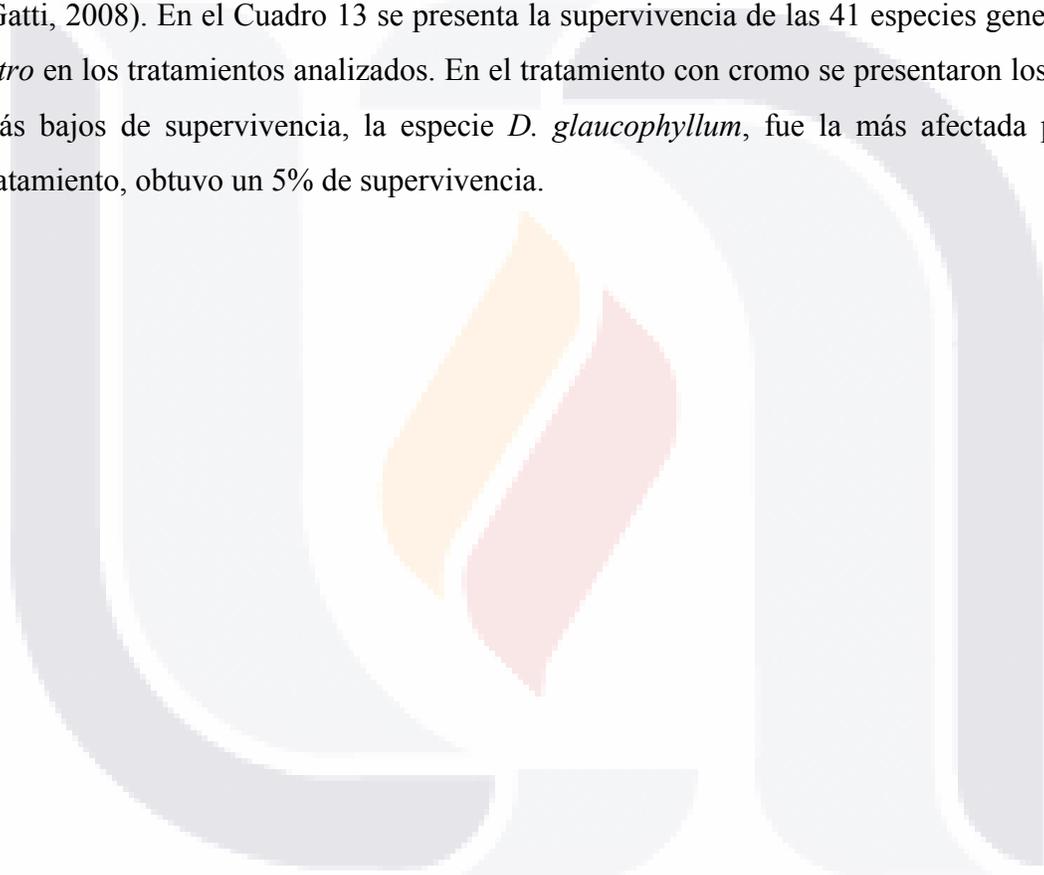


Figura 7. Efectos de los metales en las especies a) *Agave potatorum* expuesta a Cr, b) *Yucca filifera* expuesta a Cu, c) *Echinocereus triglochidiatus* expuesta Fe y d) *Dasyliirion acrotriche* expuesta a Pb.

La sensibilidad ante el cromo varía debido a una diferencia de absorción entre las especies, la fitotoxicidad provoca trastornos que afecta el crecimiento de la parte aérea y raíz, reduciendo la productividad de las plantas (Gunsé, 1987). Las altas concentraciones de Cu y Zn afectan negativamente a las plantas, la regeneración *in vitro* disminuye, causa necrosis, se dañan los cloroplastos e inhibición de la biosíntesis (Ahmad *et al.*, 2014). Mn a 0.4 mM y Zn a 0.12 mM y niveles más altos reducen significativamente el crecimiento y longitud del tallo, el aumento de la concentración provocó una disminución significativa en la morfogénesis (Gatti, 2008). En el Cuadro 13 se presenta la supervivencia de las 41 especies generadas *in vitro* en los tratamientos analizados. En el tratamiento con cromo se presentaron los niveles más bajos de supervivencia, la especie *D. glaucophyllum*, fue la más afectada por este tratamiento, obtuvo un 5% de supervivencia.



Cuadro 13. Supervivencia de las especies evaluadas expuestas a metales pesados en la etapa de enraizamiento.

| Familia | Control | Cd²⁺ | Cu²⁺ | Cr⁶⁺ | Fe²⁺ | Mn²⁺ | Pb²⁺ | Zn²⁺ |
|----------------------------|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Asparagaceae | (%) | | | | | | | |
| <i>A. bracteosa</i> | 93.3 ± 0.6 | 96.7 ± 2.1 | 93 ± 5.2 | 78.3 ± 16.1 | 96 ± 5.2 | 60 ± 24* | 79 ± 13.5 | 77.7 ± 13.7 |
| <i>A. celsii</i> | 100 ± 0 | 97.7 ± 2.3 | 99.3 ± 0.6 | 60.3 ± 35.4* | 97.7 ± 1.5 | 96.3 ± 5.5 | 97.7 ± 1.5 | 97.7 ± 1.5 |
| <i>A. chiapensis</i> | 99.3 ± 0.6 | 98.3 ± 0.6 | 90.7 ± 1.2 | 66.3 ± 3.5* | 98 ± 1.7 | 95 ± 1.7 | 96.7 ± 2.1 | 97 ± 1.7 |
| <i>A. difformis</i> | 100 ± 0 | 97.3 ± 1.5 | 93.3 ± 5.8 | 70 ± 10* | 97.3 ± 2.1 | 96 ± 3 | 99.3 ± 0.6 | 96.9 ± 1.6 |
| <i>A. funkiana</i> | 99 ± 0 | 97 ± 1.7 | 94 ± 1.7 | 36.3 ± 15* | 92 ± 3.5 | 98.3±1.2 | 89.7 ± 3.5 | 97.7 ± 0.6 |
| <i>A. obscura</i> | 100 ± 0 | 98.3 ± 0.6 | 96 ± 5.3 | 85 ± 6.2 | 90.7 ± 1.2 | 98.7 ± 1.3 | 88 ± 19.1 | 97 ± 1.7 |
| <i>A. palmeri</i> | 100 ± 0 | 97.3 ± 1.2 | 96.3 ± 5.5 | 82.7 ± 4.6* | 98.7 ± 0.6 | 97 ± 2 | 82.7 ± 4.6* | 93 ± 5.2 |
| <i>A. peacockii</i> | 100 ± 0 | 97.7 ± 1.5 | 99.3 ± 0.6 | 73 ± 3* | 98.3 ± 0.6 | 98.7 ± 0.6 | 94.7 ± 4.5 | 97 ± 1.7 |
| <i>A. potatorum</i> | 98.3 ± 2.1 | 98.3 ± 0.6 | 92 ± 10.6 | 50 ± 5* | 97.7 ± 1.5 | 99 ± 1 | 99.3 ± 0.6 | 93.7 ± 9.2 |
| <i>A. victoria-reginae</i> | 100 ± 0 | 96 ± 1.7 | 97.7 ± 1.5 | 65 ± 8.5* | 98.3 ± 1.2 | 99.3 ± 0.6 | 98.7 ± 0.6 | 97.7 ± 1.5 |
| <i>A. salmiana</i> | 100 ± 0 | 99.7 ± 0.6 | 96.3 ± 5.5 | 89 ± 9.5* | 97 ± 2 | 99.3±0.6 | 98 ± 1 | 97.3 ± 1.2 |
| <i>A. titanota</i> | 100 ± 0 | 96.3 ± 1.5 | 82.7 ± 4.6* | 62.7 ± 3.1* | 97.7 ± 2.3 | 98 ± 1.7 | 97.7 ± 1.2 | 95 ± 4.6 |
| <i>B. goldmanii</i> | 99.3 ± 0.6 | 58.7 ± 12.5* | 88.7 ± 2.3 | 31.7 ± 15.3* | 66.3± 29.7 | 97 ± 1.7 | 78.3 ± 20.2 | 95 ± 1.7 |
| <i>B. recurvata</i> | 99.3 ± 0.6 | 60.7 ± 17.5* | 90.7 ± 1.2 | 34.3 ± 24.9* | 38.7 ± 13* | 83.3± 5.8 | 71.7 ± 7.6 | 88.3 ± 4 |
| <i>D. acrotriche</i> | 98 ± 1.7 | 71.7 ± 9.8 | 72 ± 7.2 | 17.7 ± 6.8* | 76.3 ± 20.3 | 98 ± 1.7 | 43.3 ± 26.3* | 97 ± 1.7 |
| <i>D. glaucophyllum</i> | 99.7 ± 0.6 | 78 ± 36.4 | 79.3 ± 3.1 | 5 ± 5* | 41 ± 21.5* | 93 ± 3 | 66.3 ± 16.5 | 96 ± 3 |
| <i>N. durangensis</i> | 98 ± 1.7 | 47 ± 21.7* | 95.7 ± 3.1 | 16.7 ± 12.6* | 30.3 ± 8.4* | 90.7 ± 5 | 36.3 ± 12.3* | 66 ± 18.7 |

| | | | | | | | | |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <i>Y. carnerosana</i> | 95.7 ± 3.5 | 82 ± 13.9 | 76.7 ± 17.9 | 16.7 ± 7.7* | 91 ± 1.7 | 89.7 ± 3.5 | 88.7 ± 2.3 | 55 ± 19.5* |
| <i>Y. filamentosa</i> | 94 ± 1.7 | 84 ± 10.4 | 76.7 ± 3.1 | 35 ± 5* | 63.3 ± 15.3 | 88 ± 7.2 | 42 ± 13.1* | 78.3 ± 3 |
| <i>Y. filifera</i> | 97 ± 3.4 | 95 ± 1.7 | 60 ± 14.6 | 17.3 ± 6.8* | 91 ± 1.7 | 89.7 ± 1.5 | 27.3 ± 15* | 44.7 ± 12.3* |
| Familia Cactaceae | Control (%) | Cd²⁺ | Cu²⁺ | Cr⁶⁺ | Fe²⁺ | Mn²⁺ | Pb²⁺ | Zn²⁺ |
| <i>E. ferreirianus var lindsayi</i> | 100 ± 0 | 99.3 ± 0.6 | 96 ± 5.2 | 63 ± 8.9* | 82 ± 3.5* | 99.3 ± 0.6 | 90.3 ± 2.5* | 97.9 ± 1.6 |
| <i>E. knippelianus</i> | 98.3 ± 2.1 | 88.7 ± 2.3* | 88.3 ± 6.8* | 81 ± 1.7* | 95 ± 4.6 | 96.3 ± 5.5 | 98 ± 1.7 | 97 ± 3.5 |
| <i>E. (Morangaya) pensilis</i> | 98.7 ± 0.6 | 99.3 ± 0.6 | 98.7 ± 0.6 | 65.3 ± 13.6* | 98 ± 1.7 | 98 ± 1.7 | 97 ± 1.7 | 91 ± 1.7 |
| <i>E. spinigemmatu</i> | 100 ± 0 | 98.7 ± 1.2 | 94 ± 3.5 | 52.3 ± 8.1* | 78.7 ± 8.1* | 99.3 ± 0.6 | 91.3 ± 1.5 | 94 ± 3.5 |
| <i>E. triglochidiatus</i> | 99.3 ± 0.6 | 98 ± 1.7 | 95 ± 1.7 | 65.3 ± 4* | 82.7 ± 23.3 | 97.7 ± 1.5 | 97 ± 1.7 | 91 ± 1.7 |
| <i>F. peninsulae</i> | 100 ± 0 | 97.2 ± 1.1 | 95 ± 4.6 | 83 ± 3* | 86.3 ± 8.5* | 97 ± 1.7 | 92 ± 3.5 | 94 ± 3.5 |
| <i>H. undatus</i> | 97 ± 1.7 | 98.3 ± 2.1 | 94.7 ± 2.3 | 94 ± 1.7 | 97 ± 3.5 | 96 ± 3 | 98 ± 1.7 | 96 ± 5.2 |
| <i>M. cochal</i> | 100 ± 0 | 97 ± 1.7 | 96.3 ± 2.5 | 62 ± 13.1* | 97 ± 1.7 | 94 ± 1.7 | 95 ± 1.7 | 91 ± 1.7 |
| <i>M. geometrizzans</i> | 93 ± 3 | 97.7 ± 1.5 | 96.7 ± 2.1 | 83.3 ± 5.8* | 93 ± 5.2 | 94.7 ± 2.3 | 95 ± 3.5 | 95.7 ± 3.1 |
| <i>O. amyclaea</i> | 100 ± 0 | 99.3 ± 0.6 | 96.3 ± 3.9 | 97.7 ± 1.5 | 98 ± 1.7 | 94 ± 3.5* | 97 ± 1.7 | 91 ± 1.7* |
| <i>O. basilaris</i> | 97.3 ± 2.9 | 99 ± 1 | 95.3 ± 1.2 | 71 ± 10.1* | 95.7 ± 0.6 | 96 ± 3 | 95 ± 1.7 | 97 ± 1.7 |
| <i>O. cochenillifera</i> | 100 ± 0 | 97 ± 1.7 | 95 ± 1.7* | 98 ± 1.7 | 97 ± 1.7 | 97 ± 1.7 | 93 ± 3* | 94 ± 1.7* |
| <i>O. ficus - Indica</i> | 99.3 ± 0.6 | 98.3 ± 0.6 | 96 ± 3 | 93 ± 5.2* | 97 ± 3.4 | 99.3 ± 0.6 | 97.7 ± 1.5 | 90.7 ± 2.1* |
| <i>O. macrocentra</i> | 99 ± 0 | 97.7 ± 1.5 | 96 ± 5.2 | 91.3 ± 13.3 | 96 ± 3 | 96.7 ± 1.2 | 97 ± 1.7 | 97 ± 1.7 |
| <i>O. robusta</i> | 100 ± 0 | 96.3 ± 2.5 | 98 ± 1.7 | 93.7 ± 6.8 | 98 ± 1.7 | 97 ± 1.7 | 95.3 ± 1.2 | 94 ± 1.7 |

| | | | | | | | | |
|--------------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|--------------|------------|----------|
| <i>P. greggii</i> | 98.3 ± 2.1 | 97.5 ± 1.5 | 97 ± 1.7 | 73 ± 11.8* | 87.3 ± 7.5 | 98 ± 1.7 | 93 ± 5.2 | 97 ± 3.5 |
| <i>P. sacharosa</i> | 97 ± 1.7 | 97.5 ± 2.3 | 98.7 ± 0.6 | 88.3 ± 11.6 | 98 ± 1.7 | 96 ± 3 | 96 ± 3 | 94 ± 3.5 |
| <i>P. chrysacanthus</i> | 97 ± 3.5 | 98 ± 1.1 | 97 ± 1.7 | 79.7 ± 9.1* | 53.3 ± 5.8* | 98 ± 1.7 | 97 ± 1.7 | 95 ± 4.6 |
| <i>P. chichipe</i> | 99 ± 0 | 97.3 ± 1.5 | 96.3 ± 2.5 | 71 ± 10.1* | 92 ± 3.5 | 94 ± 1.7 | 94.9 ± 3.3 | 94 ± 1.7 |
| <i>S. validus</i> | 97.3 ± 2.9 | 96.3 ± 2.5 | 95.3 ± 4 | 93 ± 3 | 86 ± 17.3 | 42.7 ± 32.4* | 95.4 ± 1 | 96 ± 3 |
| <i>S. queretaroensis</i> | 97.3 ± 2.1 | 96.7 ± 2.1 | 97.3 ± 1.5 | 86.3 ± 5.5* | 96 ± 3 | 95 ± 1.7 | 93 ± 0.1 | 97 ± 1.7 |

Media ± Desviación estándar n=9. Prueba Dunnet (P ≤ 0.05). * Indica diferencia significativa.

En el tratamiento con cromo se presentó menor supervivencia en la familia Asparagaceae a diferencia de la familia Cactaceae; el género *Opuntia* presenta hasta 98% de supervivencia. El cromo (VI) se transfiere activamente mediante transportadores de sulfato; el cromo se encuentra restringido a los tejidos vasculares de las raíces (xilema secundario). Experimentos realizados en plantas modelos demostraron disminución de la biomasa, presencia de clorosis y reducción de la tasa fotosintética. La acumulación de cromo es principalmente en raíces con un mínimo transporte a la parte aérea (Babula *et al.*, 2010).

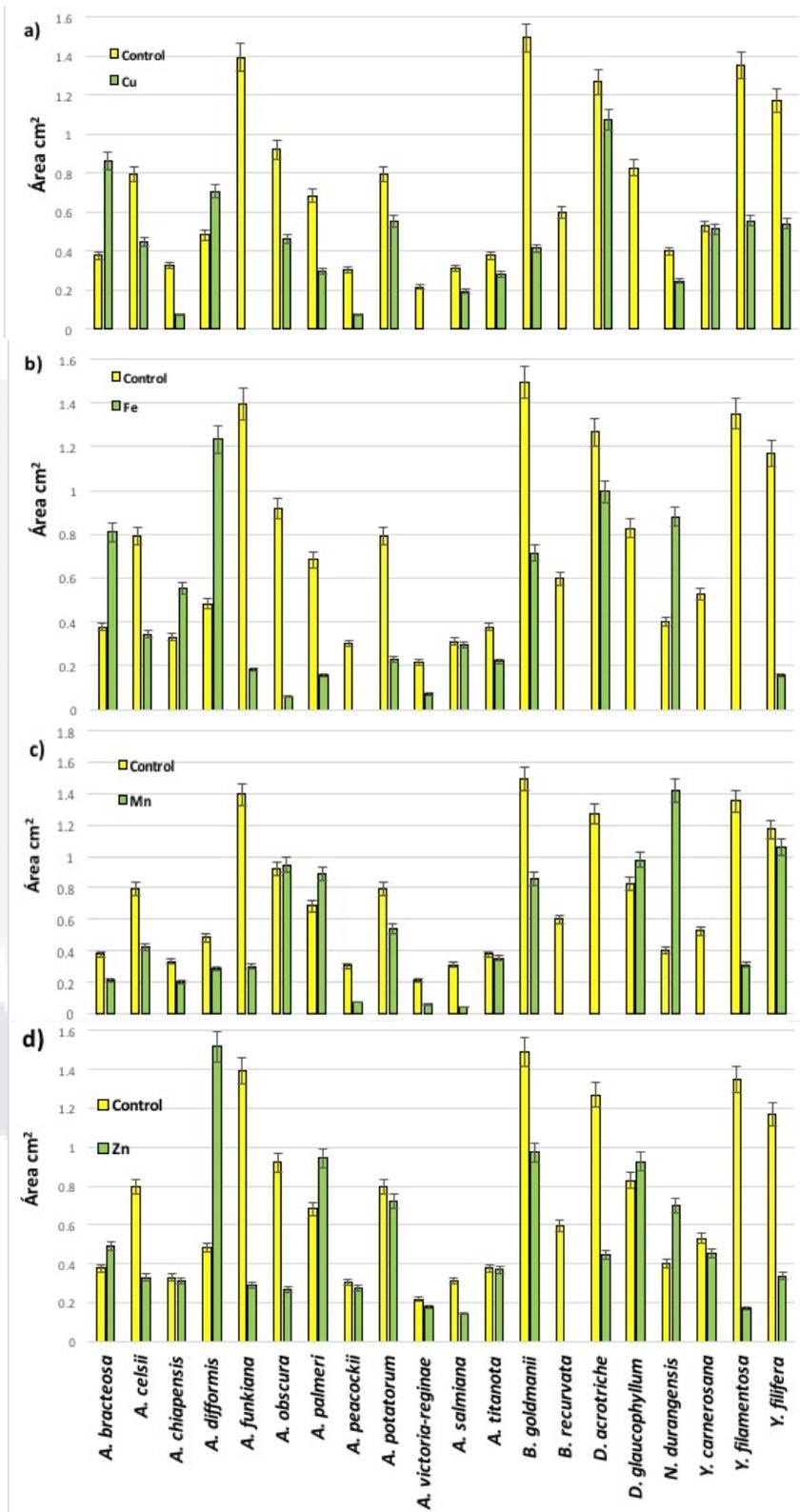
7.3 Morfología del sistema radical de las plantas de zonas áridas propagadas *in vitro*

Familias como la Asparagaceae y Cactaceae presentan dos formas de raíces; una es cuando la radícula se deriva de una semilla entonces se forma una raíz típica pivotante y la otra es cuando la radícula se origina de una reproducción vegetativa como la propagación *in vitro*, entonces la raíz que se forma es del tipo fasciculada superficial (Nobel, 2003).

***Anexo D. Longitud de la raíz.**

A continuación se presentan los resultados del programa imagen Java donde se calculó el área de las raíces desarrolladas en el tratamiento control y en los siete tratamientos con metales pesados Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb y Zn.

Nuestros resultados mostraron que el Cu a 0.2 mM inhibió el proceso de enraizamiento en *A. funkiana*, *A. victoria-reginae*, *F. peninsulæ*, *P. greggii*, *B. recurvata* y *D. glaucophyllum* (Gráfica 3 y 4). En un estudio sobre el efecto tóxico de Cu, causó daño en arroz y trigo a una concentración de 10 μM (Mahmood *et al.*, 2007).

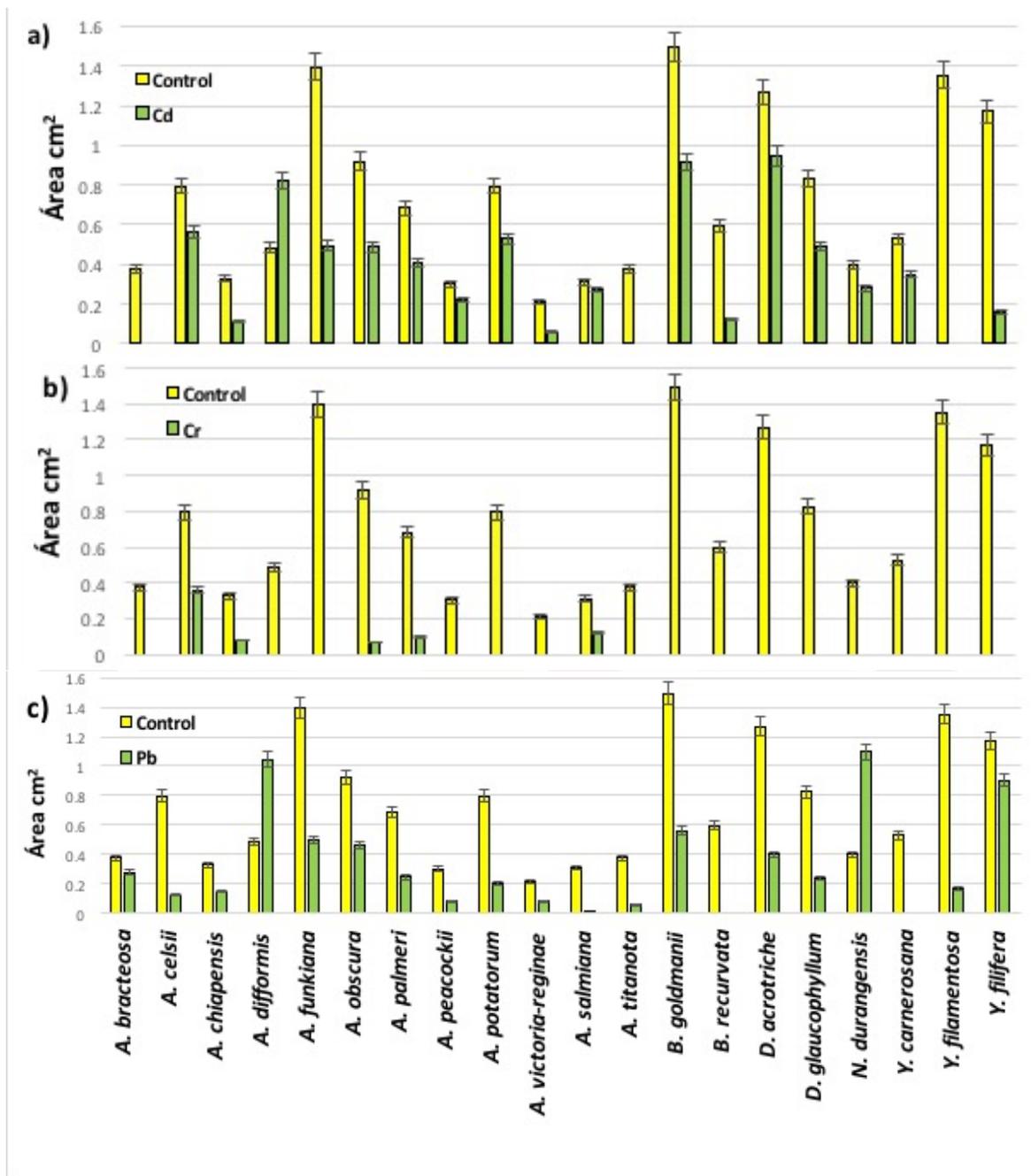


Gráfica 3. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cu^{2+} , b) Fe^{2+} , c) Mn^{2+} y d) Zn^{2+} .

En Cu, *A. bracteosa* y *A. difformis* presentan mayor área que en el tratamiento control; en Fe, *A. bracteosa*, *A. chiapensis* y *A. difformis*; en Mn, *A. obscura*, *A. palmeri*, *D. glaucophyllum* y *N. durangensis* y en Zn, *A. bracteosa*, *A. difformis*, *A. palmeri*, *D. glaucophyllum* y *N. durangensis*. En el tratamiento con Cu y Fe, *B. recurvata* y *D. glaucophyllum* no desarrollaron raíz, en Mn *B. recurvata* y *D. acrotriche* no formaron raíz y en Zn, *B. recurvata* no presentó raíz.

En este trabajo, el Cr evaluado fue VI a una concentración de 1 mM, el tratamiento ocasionó la inhibición del desarrollo en la raíz de *A. bracteosa*, *A. difformis*, *A. funkiana*, *A. peacockii*, *A. potatorum*, *A. victoria-reginae* y *A. titanota*. Sólo cinco de las 20 especies evaluadas de la familia Asparagaceae desarrollaron raíz en el tratamiento con cromo, *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. obscura*, *A. palmeri* y *A. salmiana*. González-Pineda *et al.* (2006) evaluaron al Cr (III) y Cr (VI), encontrando que el Cr (VI) fue altamente tóxico para *Zea mays* y fue un buen acumulador de este metal a nivel radicular hasta 97% a diferencia del Cr (III) con un 91%.

La especie *A. difformis* desarrolló mayor área de las raíces en el tratamiento con Cd y Pb que en el tratamiento control. En el tratamiento con plomo solo *B. recurvata* y *Y. carnerosana* no desarrollaron raíz (Gráfica 4).



Gráfica 4. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cd²⁺, b) Cr⁶⁺ y c) Pb²⁺.

La especie *A. celsii* presentó raíz en todos los tratamientos, en plomo fue donde obtuvo menor área (Figura 8).

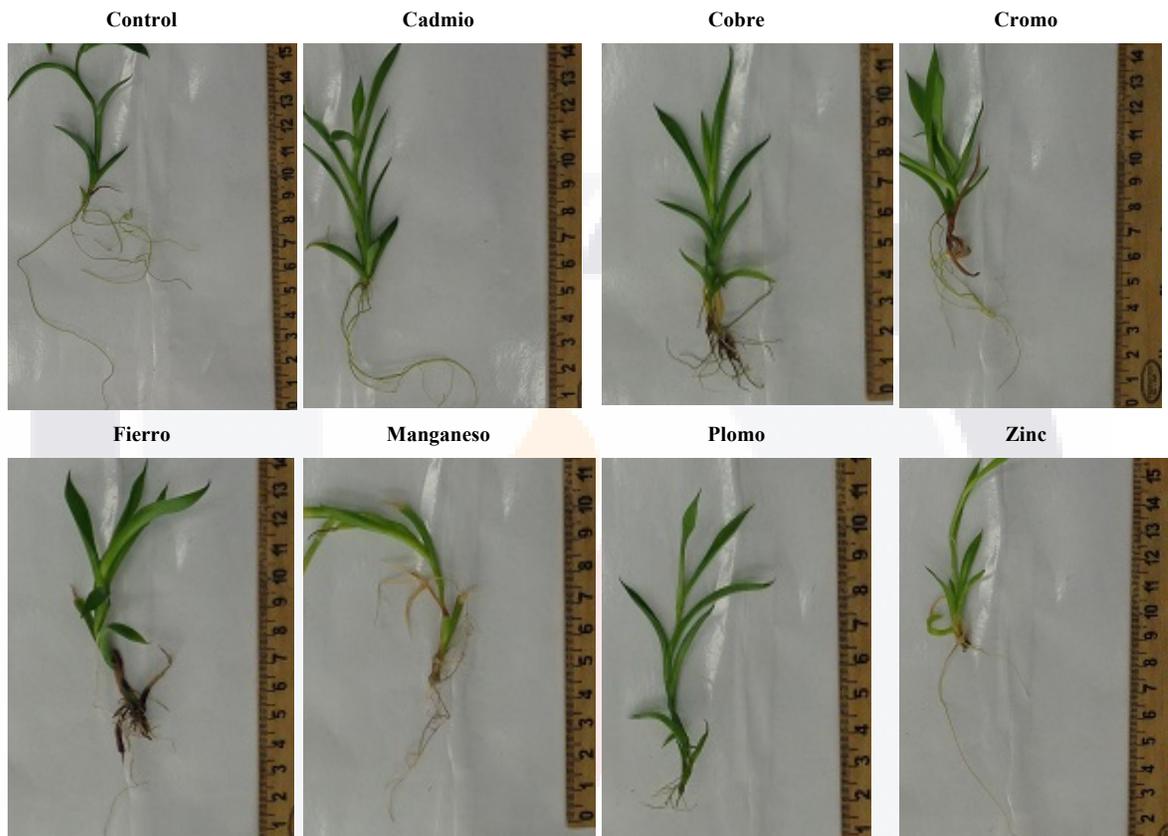


Figura 8. Morfología de las raíces desarrolladas *in vitro* con su respectivo tratamiento de la especie *Agave celsii*.

N. durangensis no toleró el tratamiento con cromo presentado muerte total. En cromo presentó menor elongación de la raíz (Figura 9). La acidez en los suelos puede llevar a un aumento en la disponibilidad y absorción de iones metálicos en plantas, lo que lleva a que la planta presenten síntomas de toxicidad la epidermis de la raíz puede llegar a ser lignificada (Balsberg, 1989).



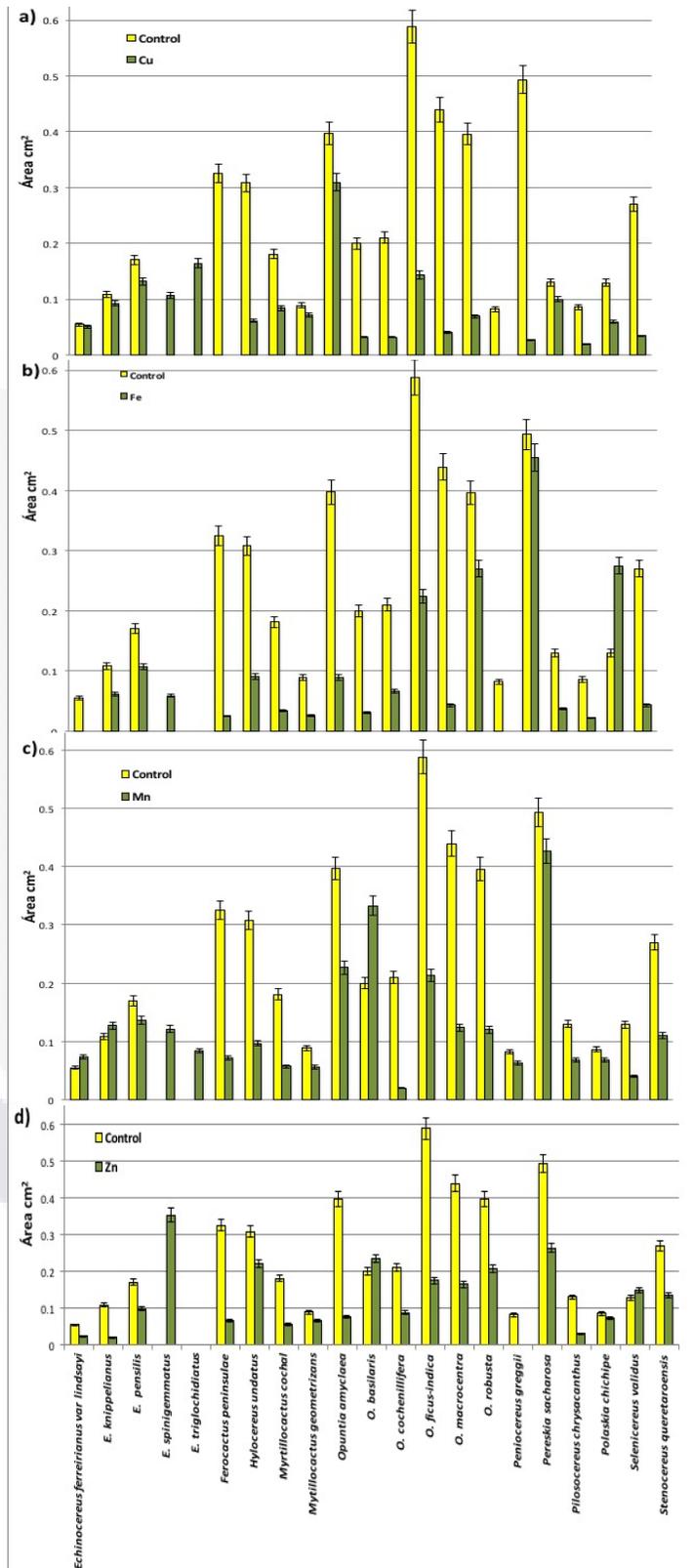
Figura 9. Morfología de las raíces desarrolladas *in vitro* con su respectivo tratamiento de la especie *Nolina durangensis*.

Y. filamentosa fue susceptible a Cr y Fe, presentando muerte total, en Cd no desarrolló raíz y en Pb y Zn presentó menor desarrollo de la raíz (Figura 10). En un estudio sobre los efectos de metales en el crecimiento de *Populus tremula* y *P. alba*, la toxicidad del Cd indujo la perturbación del citoesqueleto en las raíces (Durand *et al.* 2010). El metal Cd destruye cloroplastos y es un bioindicador de toxicidad, el Cr inhibe el crecimiento, la biomasa y la formación de raíces (mecanismos de interferencia) y el Pb reduce el número de hojas y área foliar e inhibición de la actividad enzimática (Bouzon *et al.* 2012).



Figura 10. Morfología de las raíces desarrolladas *in vitro* con su respectivo tratamiento de la especie *Yucca filamentosa*.

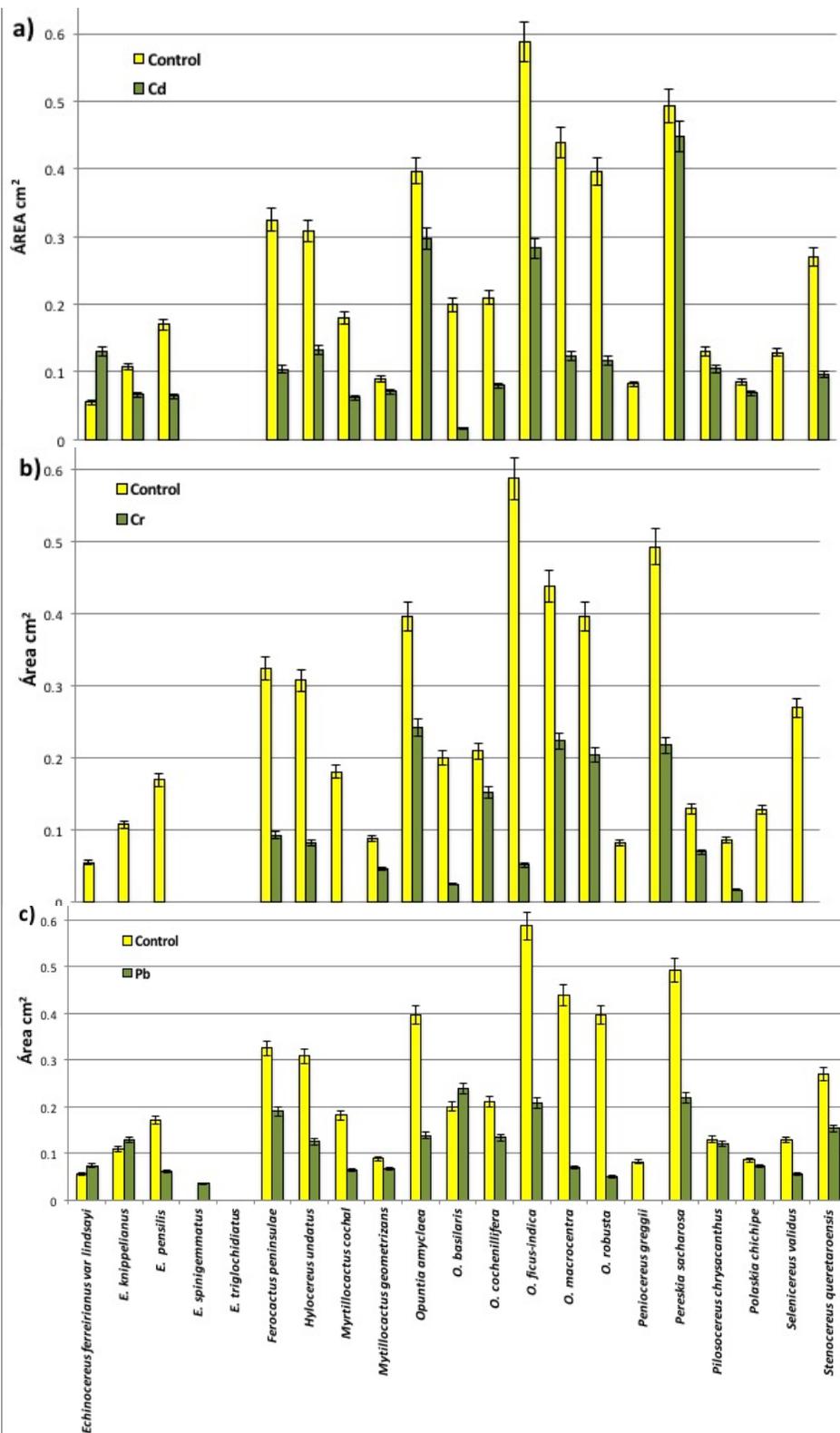
En el tratamiento con Cu, *F. peninsulæ* y *P. greggii* no desarrollaron raíz, en Fe *E. ferreirianus var lindasay* y *P. greggii* no presentaron raíz, en Mn las 21 especies desarrollaron raíz y en el tratamiento con Zn, *E. triglochidiatus* y *P. greggii* no formaron raíz (Gráfica 5).



Gráfica 5. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos con a) Cu^{2+} , b) Fe^{2+} , c) Mn^{2+} y d) Zn^{2+} .

Las especies *E. spinigemmatum* y *E. triglochidiatus* no desarrollaron raíz en el tratamiento control pero en el tratamiento con Cu si presentan raíz, en Fe *E. spinigemmatum* no formó raíz pero en el tratamiento control si, en Mn *E. spinigemmatum* y *E. triglochidiatus* presentaron raíz pero no desarrollaron raíz en el tratamiento control, en Zn la especie *E. spinigemmatum* desarrolló raíz pero en el tratamiento control no formó raíz. Nuestros resultados coinciden con los reportados. La adición de metales considerados como micronutrientes Cu 0.05 mM y Zn 0.12 mM promovió la formación de raíces en la especie *Albizia lebbek L.* hasta una 70% (Perveen *et al.*, 2012). La especie *Aechmea blanchetiana* de la familia Bromeliaceae, estimuló el desarrollo de las raíces en medio con 0.14 mM de Cu y 0.002 mM de Zn (Giampaoli *et al.*, 2010).

En la Gráfica 6 se muestran los resultados de los metales pesados Cd, Cr y Pb en la formación de raíces. En el tratamiento con Cd, *E. spinigemmatum*, *E. triglochidiatus*, *P. greggii* y *S. validus* no presentaron raíz, en Cr *E. ferreirianus var lindasay*, *E. knippelianus*, *E. pensilis*, *E. spinigemmatum*, *E. triglochidiatus*, *M. cochal*, *P. greggii*, *S. validus* y *S. queretaroensis* y finalmente en Pb, *E. spinigemmatum*, *E. triglochidiatus* y *P. greggi* no formaron raíz. Las plantas que crecen en suelos contaminados por metales pesados tiene raíces de menor longitud y las raíces adventicias son muy delgadas, estas modificaciones morfológicas se deben a las altas concentraciones del tóxico (Ashraf *et al.*, 2011).



Gráfica 6. Efecto de los metales en el desarrollo de las raíces de las especies analizadas en los tratamientos a) Cd²⁺, b) Cr⁶⁺ y c) Pb²⁺.

La especie *O. amyclaea* obtuvo menor elongación en Fe y Cr. En el tratamiento con Cu se observan raíces laterales (Figura 11). Vargas-Palominos *et al.* (2007) concluyeron que el metal Pb a 1.5 mM y Zn a 2 mM producen raíces laterales. La toxicidad de metales puede ser estudiada mediante la evaluación de los efectos sobre el crecimiento de las plantas. En este trabajo la concentración del tratamiento con Pb fue de 0.4 mM y de Zn 0.48 mM; se observó crecimiento de raíces laterales.



Figura 11. Morfología de las raíces desarrolladas *in vitro* con su respectivo tratamiento de la especie *Opuntia amyclaea*.

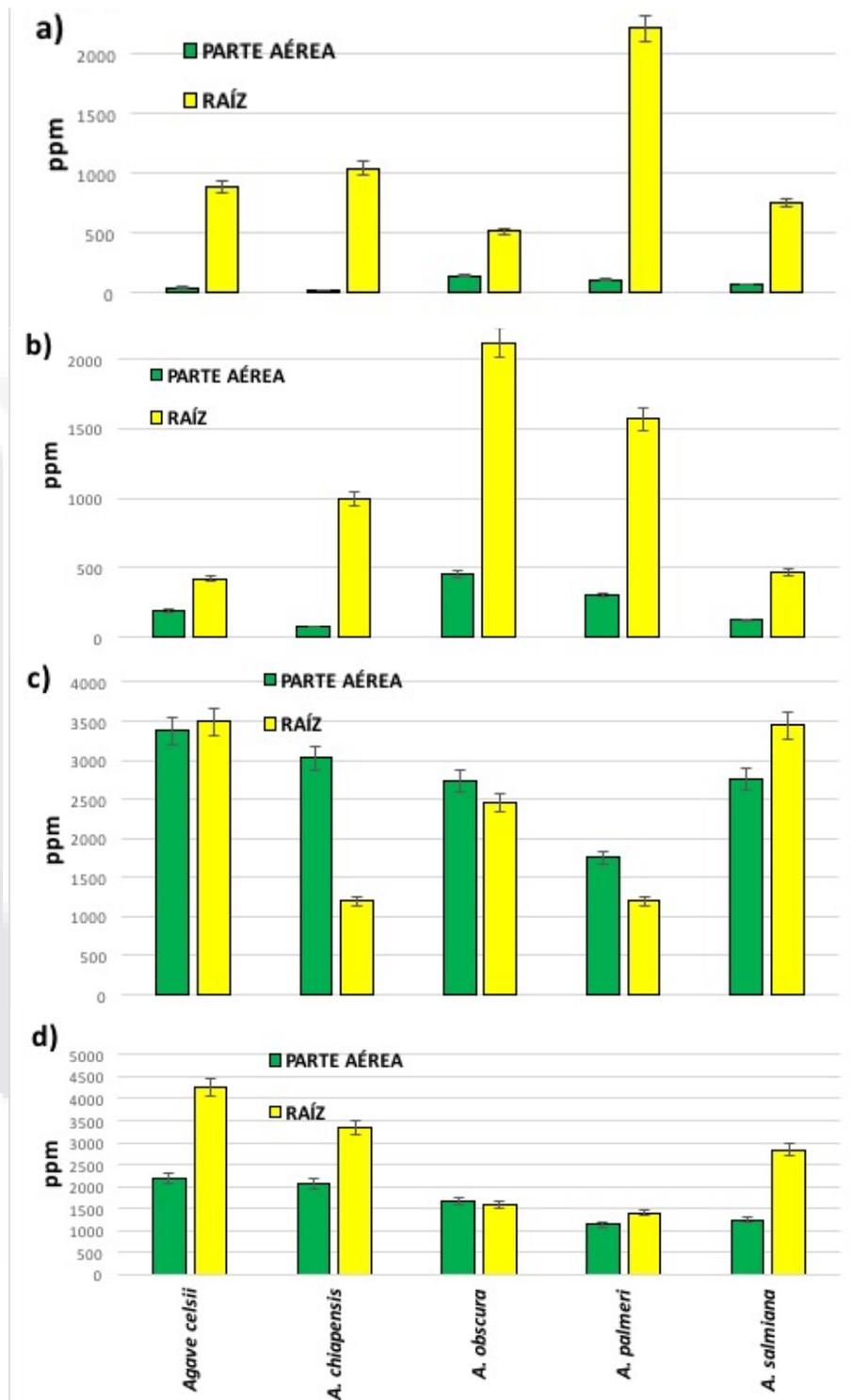
7.4. Cuantificación de los metales pesados

De las 41 especies propagadas *in vitro* 14 desarrollaron raíz en todos los tratamientos *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana*, *A. palmeri*, *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe*, estas especies fueron seleccionadas para la cuantificación de metales pesados en parte aérea y raíz.

*ANEXO E. Curva de calibración de los metales pesados.

Los resultados de concentración de metales pesados en parte aérea y raíz de las cinco especies de la familia Asparagaceae *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. obscura*, *A. palmeri* y *A. salmiana* se muestran a continuación en la Gráfica 7.

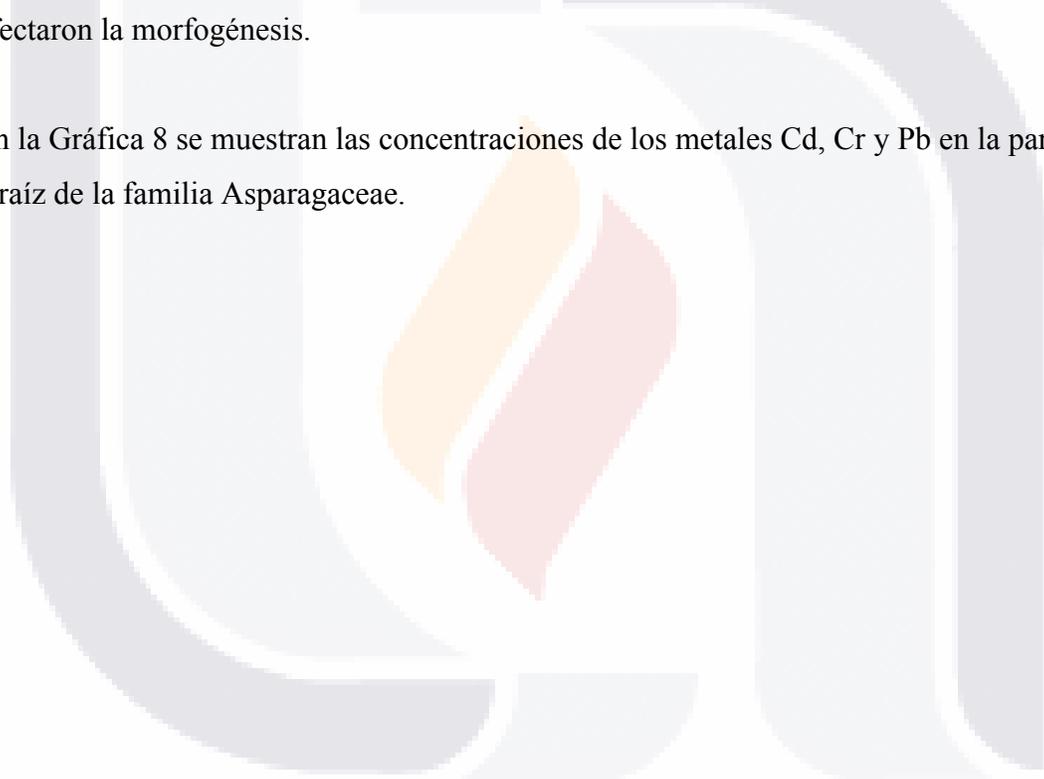
*ANEXO F. Concentración de los metales pesados familia Asparagaceae.

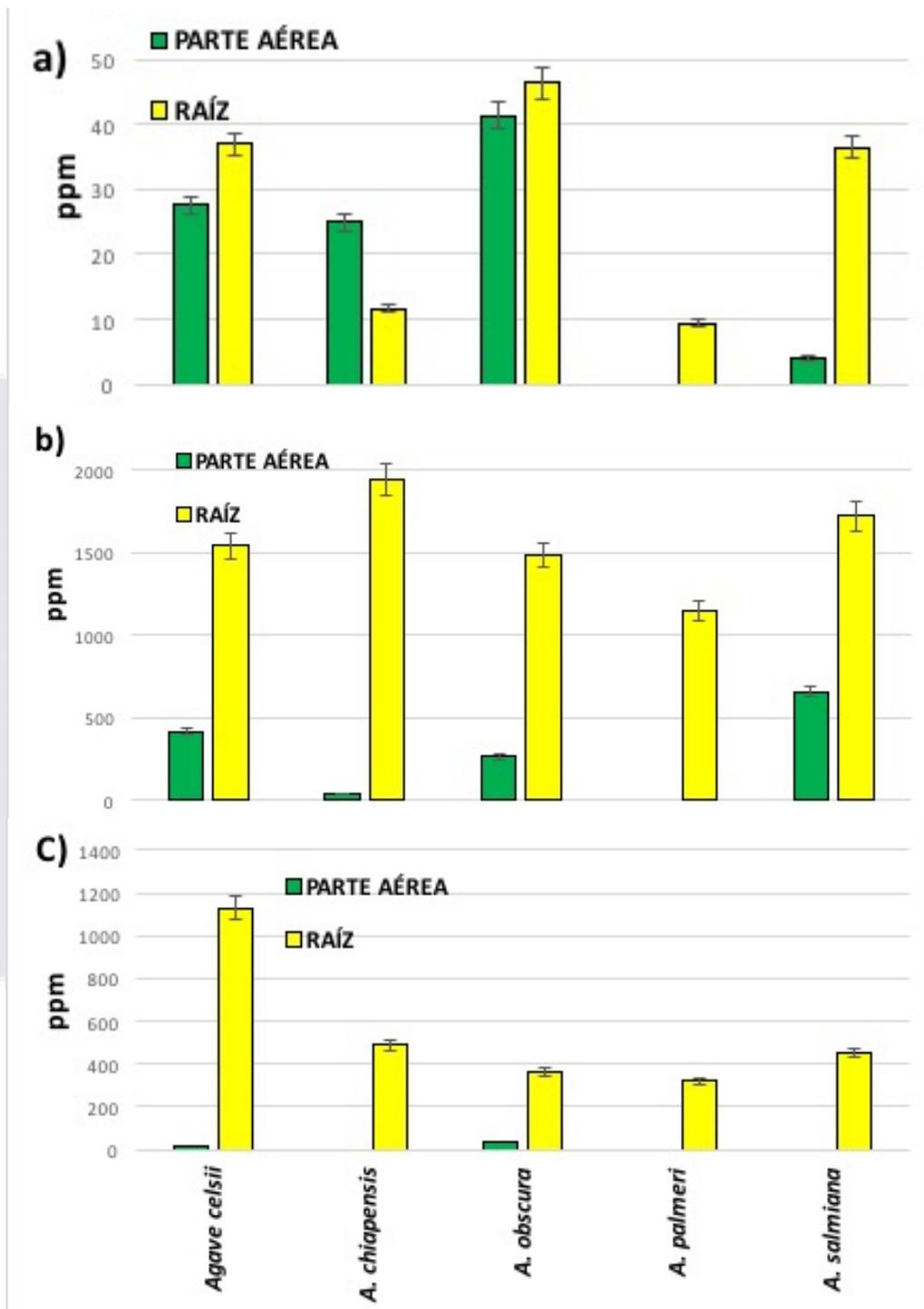


Gráfica 7. Concentración media (± SD) de a) Cu²⁺, b) Fe²⁺, c) Mn²⁺ y d) Zn²⁺ en parte aérea y raíz familia Asparagaceae.

En el tratamiento con Cu y Fe las cinco especies acumularon la mayor cantidad de metal en la raíz. En Mn, *A. chiapensis*, *A. obscura* y *A. palmeri* y en Pb *A. obscura* presentan más concentración del metal en la parte aérea. Las plantas tolerantes acumulan y restringen el metal en la raíz y las plantas hiperacumuladoras translocan activamente el metal a la parte aérea. Boularbah *et al.* (2006), evaluaron el grado de acumulación de metales en plantas que se encontraban en zonas mineras, encontraron que las plantas que crecieron en el lugar, no fueron hiperacumuladoras pero si hipertolerantes, por lo que podrían utilizarse como una herramienta para el restablecimiento de la vegetación, por ejemplo *Ailanthusn altissima* toleró 0.05 mM de Cu, 0.4 mM de Mn y 0.12 mM de Zn, en concentraciones más altas afectaron la morfogénesis.

En la Gráfica 8 se muestran las concentraciones de los metales Cd, Cr y Pb en la parte aérea y raíz de la familia Asparagaceae.





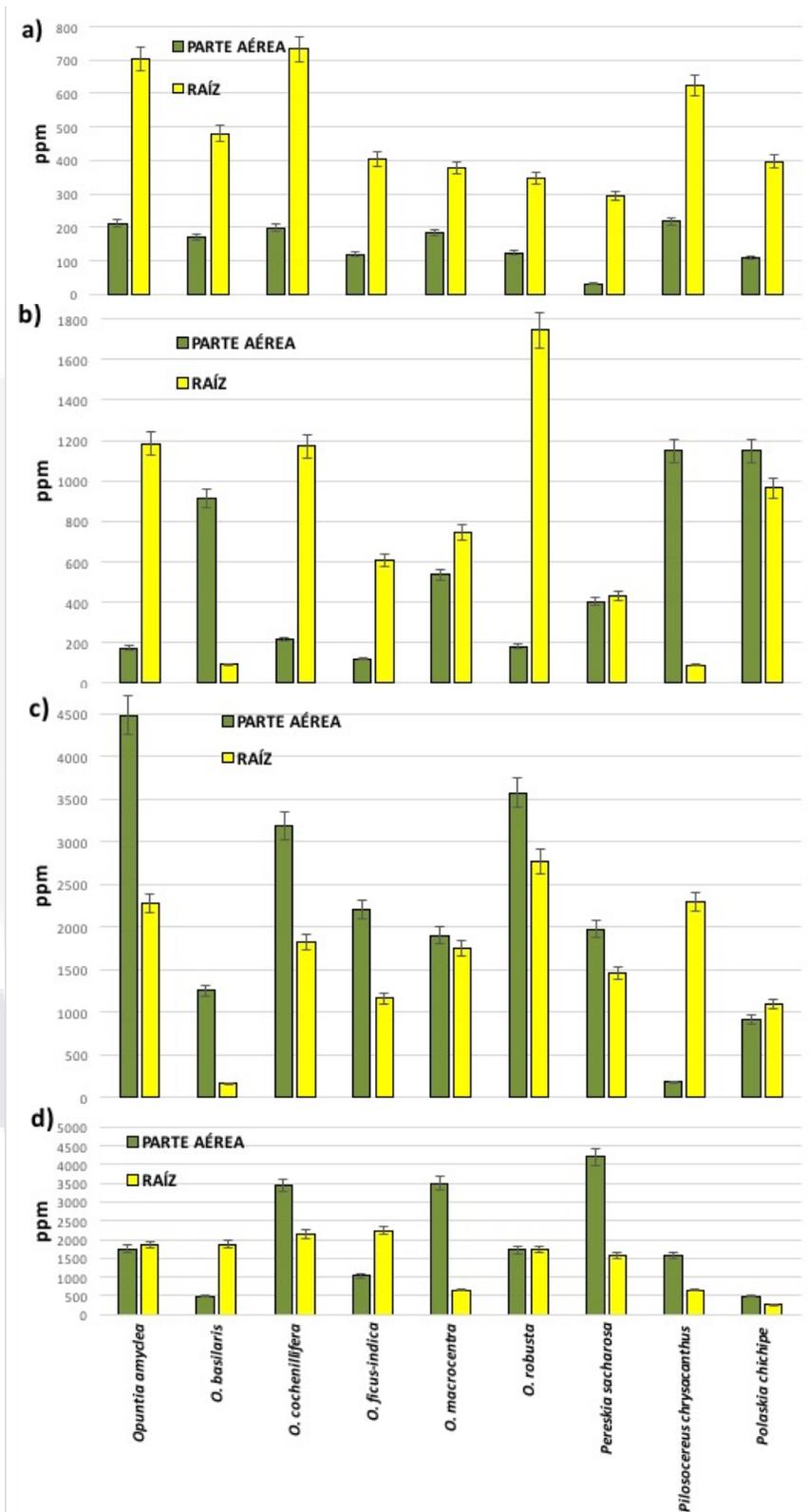
Gráfica 8. Concentración media (± SD) de a) Cd²⁺, b) Cr⁶⁺ y c) Pb²⁺ en parte aérea y raíz familia Asparagaceae.

En el tratamiento con cadmio la especie *A. chiapensis* presentó mayor concentración del metal en la parte aérea. El cromo se acumuló en la raíz de las especies *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana* y *A. palmeri*. El *Agave americana* tiene mecanismos de exclusión para Cr debido a que se acumula principalmente en las raíces por lo que tiene un enorme potencial de fitoestabilización de cromo (Ramana *et al.*, 2016). El control de las proteínas transportadoras presentes en las membranas celulares le permite a la planta modificar el ingreso y limita el movimiento del metal en la planta, favoreciendo en la mayoría de los casos su acumulación en las raíces (Azpilicueta *et al.*, 2010).

Las especies *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana* y *A. palmeri* acumularon el metal Pb en la raíz. El Pb se acumula mayormente en la raíz de la planta debido a que el ion Pb^{2+} se une fuerte al grupo carboxilo del ácido galacturónico que esta en presente en las paredes celulares y que restringe su transporte vía apoplasto (Peláez *et al.*, 2014).

***ANEXO G. Concentración de los metales pesados familia Cactaceae.**

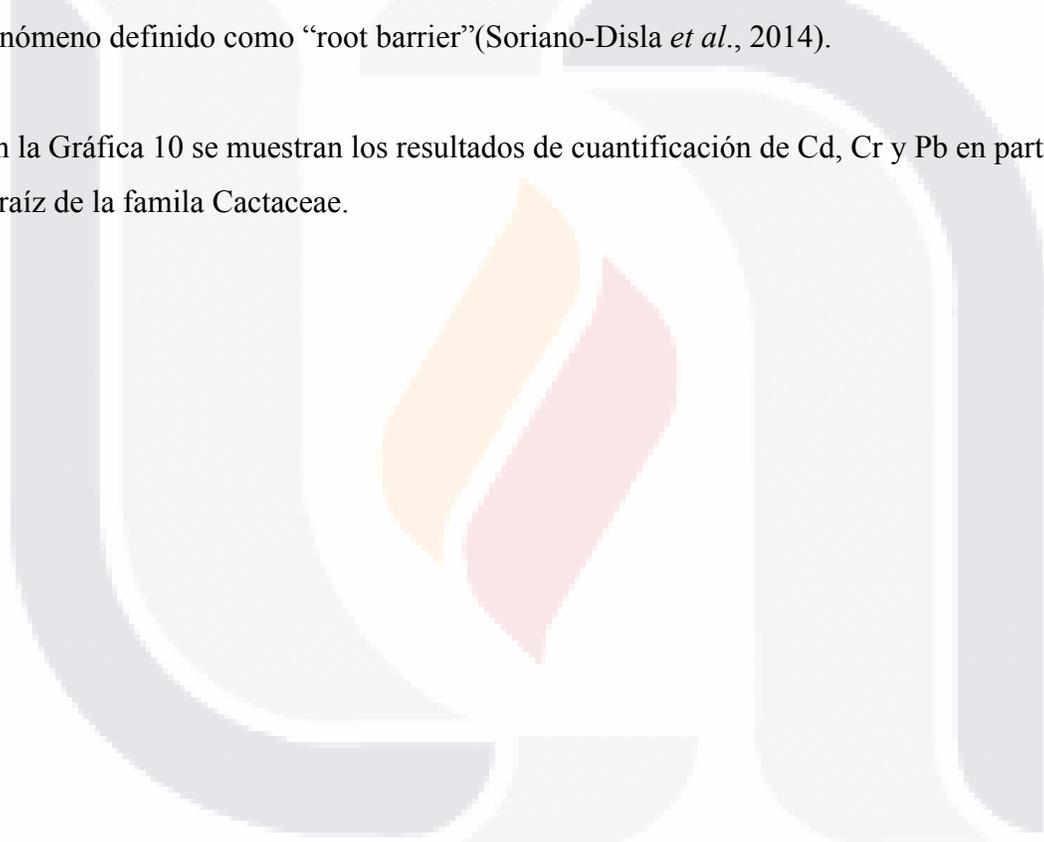
En la Gráfica 9 se muestran los resultados de la acumulación de metales de la familia Cactaceae.

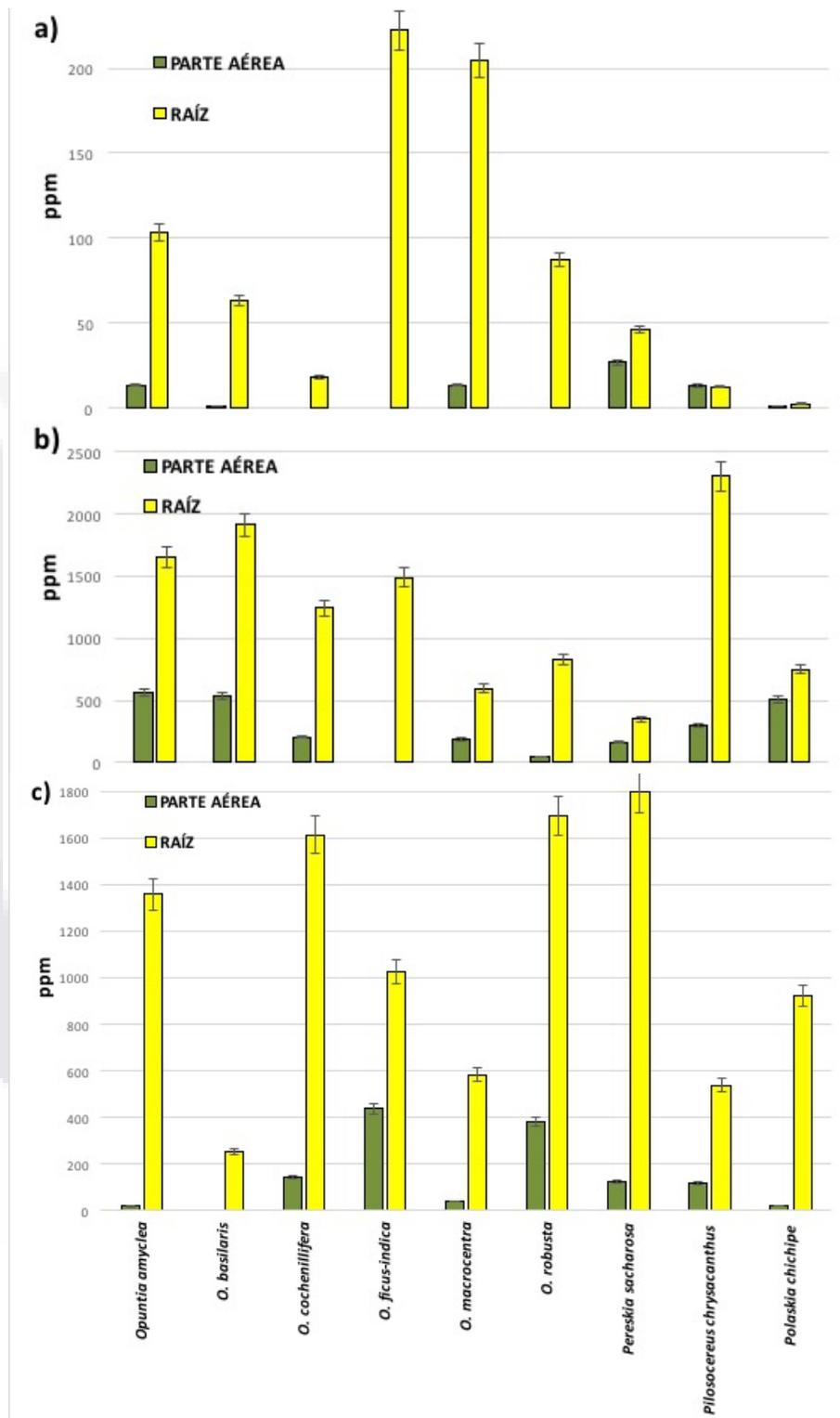


Gráfica 9. Concentración media (± SD) de a) Cu²⁺, b) Fe²⁺, c) Mn²⁺ y d) Zn²⁺ en parte aérea y raíz familia Cactaceae.

En Cu, *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe* presentan mayor cantidad del metal en raíz. En Fe, *O. basilaris*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe* acumularon el metal en mayor concentración en la parte aérea. En Mn, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe*, en Zn *O. basilaris* y *O. ficus-indica* acumularon el metal en raíz. En un estudio de transferencia de metales pesados Cd, Cu, Cr, Pb y Zn a la cebada (*Hordeum vulgare*) concluyeron que las raíces desarrollan mecanismos de exclusión a altas concentraciones (Cd 0.26, Cu 24, Cr 40, Pb 90 y Zn 44 mg Kg⁻¹) de metales pesados y mecanismos de retención de metales en la raíces fenómeno definido como “root barrier”(Soriano-Disla *et al.*, 2014).

En la Gráfica 10 se muestran los resultados de cuantificación de Cd, Cr y Pb en parte aérea y raíz de la familia Cactaceae.





Gráfica 10. Concentración media (± SD) de a) Cd²⁺, b) Cr⁶⁺ y c) Pb²⁺ en parte aérea y raíz familia Cactaceae.

Las nueve especies evaluadas de la familia Cactaceae *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe* en Cd, Cr y Pb presentan mayor concentración de los metales en la raíz. Los mecanismos fisiológicos en plantas consiste en el secuestro del metal en la pared celular, reducción de la absorción del metal por la membrana plasmática, la quelación del metal en el citosol por fitoquelatinas y el secuestro del metal en vacuolas (González-Mendoza *et al.*, 2008). En *Arabidopsis thaliana* a una concentración de 200 µM, el dicromato de potasio inhibe el crecimiento de la raíz primaria. El dicromato de potasio compite con nutrientes minerales esenciales mediante su unión a los transportadores, lo que afecta la la división celular, que inhibe el crecimiento de la raíz (Ortiz-Castro *et al.*, 2008).

Durante la evaluación de la bioacumulación y toxicidad del cadmio en el pasto *Brachiaria dictyoneura* se observó una disminución en el crecimiento y tamaño de hasta 65% (Arroyave *et al.*, 2010). El cadmio produce clorosis, afectando el crecimiento de la planta, la morfología y la fotosíntesis (Liu *et al.*, 2014). Los transportadores al interior de la célula son los transportadores específicos de calcio, proteínas IRT-1 y Nramp localizada en la membrana de la vacuola (Rodríguez *et al.*, 2008).

En los cuadros 14 y 15 se presentan los resultados del TF y BAC de todos los tratamientos con metales pesados.

Cuadro 14. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cu, Fe, Mn y Zn familia Asparagaceae.

| Especie / Metal | Cu ²⁺ | | | Fe ²⁺ | | | Mn ²⁺ | | | Zn ²⁺ | | |
|----------------------|------------------|-------|---|------------------|------|---|------------------|-------|---|------------------|-------|---|
| | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C |
| <i>A. celsii</i> | 0.04 | 3.31 | F | 0.45 | 3.47 | F | 0.97 | 38.78 | I | 0.51 | 70.52 | F |
| <i>A. chiapensis</i> | 0.02 | 1.55 | F | 0.07 | 1.35 | F | 2.53 | 34.81 | H | 0.62 | 66.44 | F |
| <i>A. obscura</i> | 0.27 | 11.73 | F | 0.21 | 8.22 | F | 1.11 | 31.55 | H | 1.06 | 53.57 | H |
| <i>A. palmeri</i> | 0.05 | 8.97 | F | 0.19 | 5.54 | F | 1.47 | 20.13 | H | 0.82 | 36.66 | F |
| <i>A. salmiana</i> | 0.08 | 5.13 | F | 0.25 | 2.17 | F | 0.80 | 31.60 | F | 0.44 | 40.03 | F |

C: Clasificación, F : Fitoestabilizadora, H: Hiperacumuladora, I:Indicadora.

En Cu y Fe, las cinco especies fueron clasificadas como fitoestabilizadoras. En Mn y Zn, se presentaron especies hiperacumuladoras. En Mn, *A. celsii* fue indicadora lo que quiere decir que la concentración encontrada en la planta, fue similar a la añadida al medio de cultivo.

En cadmio y cromo se clasificaron especies como fitoestabilizadora, hiperacumuladora y exclusoras. En plomo las cinco plantas fueron exclusoras (Cuadro 15).

Cuadro 15. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cd, Cr y Pb familia Asparagaceae.

| Especie / Metal | Cd ²⁺ | | | Cr ⁶⁺ | | | Pb ²⁺ | | |
|----------------------|------------------|-------|---|------------------|------|---|------------------|------|---|
| | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C |
| <i>A. celsii</i> | 0.75 | 55.3 | F | 0.27 | 4.04 | F | 0.01 | 0.19 | E |
| <i>A. chiapensis</i> | 2.15 | 49.86 | H | 0.02 | 0.42 | E | 0 | 0 | E |
| <i>A. obscura</i> | 0.89 | 82.78 | F | 0.18 | 2.55 | F | 0.10 | 0.44 | E |
| <i>A. palmeri</i> | 0 | 0 | E | 0 | 0 | E | 0 | 0 | E |
| <i>A. salmiana</i> | 0.11 | 8 | F | 0.38 | 6.40 | F | 0 | 0 | E |

C: Clasificación, F : Fitoestabilizadora, H: Hiperacumuladora, E: Exclusora.

Las especies fueron fitoestabilizadoras y exclusoras solo *A. chiapensis* fue hiperacumuladora en Cd. Las plantas tolerantes acumulan y restringen el metal en la raíz. Si el TF es mayor a 1, el potencial de la planta es de hiperacumular metales en la biomasa aérea. Las plantas que presentan TF menor a 1, tienen potencial de fitoestabilizar metales en sus raíces, si la planta solo restringe la acumulación a sus raíces es exclusora (Hesami *et al.*, 2018).

En los cuadros 16 y 17 se presentan los resultados del TF y BAC de todos los tratamientos con metales pesados.

En Cu, todas las especies evaluadas fueron fitoestabilizadoras; en Fe, *O. basilaris*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe* fueron hiperacumuladoras; en Mn, *O. amyclaea* y en Zn, *P. sacharosa* fueron indicadoras (Cuadro 16).

Cuadro 16. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cu, Fe, Mn, Pb y Zn familia Cactaceae.

| Especie / Metal | Cu ²⁺ | | | Fe ²⁺ | | | Mn ²⁺ | | | Zn ²⁺ | | |
|--------------------------|------------------|-------|---|------------------|-------|---|------------------|-------|---|------------------|--------|---|
| | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C |
| <i>O. amyclaea</i> | 0.30 | 17.59 | F | 0.14 | 3.18 | F | 1.97 | 51.55 | I | 0.94 | 56.63 | F |
| <i>O. basilaris</i> | 0.35 | 14.29 | F | 9.76 | 16.56 | H | 7.50 | 14.47 | H | 0.26 | 15.69 | F |
| <i>O. cochenillifera</i> | 0.27 | 16.53 | F | 0.18 | 3.93 | F | 1.74 | 36.69 | H | 1.60 | 111.16 | H |
| <i>O. ficus-indica</i> | 0.29 | 9.91 | F | 0.19 | 2.18 | F | 1.90 | 25.40 | H | 0.46 | 33.32 | F |
| <i>O. macrocentra</i> | 0.48 | 15.22 | F | 0.72 | 9.75 | F | 1.09 | 21.91 | H | 5.35 | 112.99 | H |
| <i>O. robusta</i> | 0.35 | 10.36 | F | 0.10 | 3.30 | F | 1.29 | 41.13 | H | 0.98 | 55.37 | F |
| <i>P. sacharosa</i> | 0.10 | 2.58 | F | 0.94 | 7.34 | F | 1.35 | 22.74 | H | 2.68 | 135.68 | I |
| <i>P. chrysacanthus</i> | 0.34 | 18.08 | F | 12.62 | 20.86 | H | 0.07 | 2.06 | F | 2.39 | 50.49 | H |
| <i>P. chichipe</i> | 0.27 | 9.04 | F | 1.18 | 20.87 | H | 0.84 | 10.53 | F | 1.94 | 15.80 | H |

C: Clasificación, F : Fitoestabilizadora, H: Hiperacumuladora, I:Indicadora.

Las especies se clasificaron como fitoestabilizadoras y exclusoras solo *P. chrysacanthus* fue hiperacumuladora (Cuadro 17).

Cuadro 17. Media del factor de translocación (TF) y factor de bioacumulación (BAC) para Cd, Cr y Pb familia Cactaceae.

| Especie / Metal | Cd ²⁺ | | | Cr ⁶⁺ | | | Pb ²⁺ | | |
|--------------------------|------------------|-------|---|------------------|------|---|------------------|------|---|
| | TF | BAC | C | TF | BAC | C | TF | BAC | C |
| <i>O. amyclaea</i> | 0.13 | 27.28 | F | 0.34 | 5.48 | F | 0.01 | 0.24 | E |
| <i>O. basilaris</i> | 0.02 | 2.58 | F | 0.27 | 5.16 | F | 0 | 0 | E |
| <i>O. cochenillifera</i> | 0 | 0 | E | 0.16 | 2.01 | F | 0.09 | 1.78 | F |
| <i>O. ficus-indica</i> | 0 | 0 | E | 0 | 0 | E | 0.42 | 5.36 | F |
| <i>O. macrocentra</i> | 0.06 | 27.52 | F | 0.31 | 1.82 | F | 0.07 | 0.50 | E |
| <i>O. robusta</i> | 0 | 0 | E | 0.05 | 0.43 | E | 0.22 | 4.65 | F |
| <i>P. sacharosa</i> | 0.58 | 54.3 | F | 0.46 | 1.58 | F | 0.07 | 1.56 | F |
| <i>P. chrysacanthus</i> | 1.04 | 26.36 | H | 0.12 | 2.87 | F | 0.22 | 1.48 | F |
| <i>P. chichipe</i> | 0.47 | 2.64 | F | 0.68 | 4.96 | F | 0.02 | 0.28 | E |

C. Clasificación, F : Fitoestabilizadora, H: Hiperacumuladora, E: Exclusora

El Cd es capturado por las células de las raíces, se une a la pared celular epidérmica y es transportado por intercambio iónico a la parte aérea (Pernía *et al.*, 2008). La absorción de Cu es a través de la epidermis de la raíz, el movimiento de los iones de la epidermis a la endodermis radicular es apoplástica (León y Sepúlveda-Jiménez, 2012). El Cr^{6+} entra en las raíces de las plantas por transporte activo. Tiene alto poder tóxico lo que produce desnaturalización de proteínas, alteraciones nutricionales y afecta el crecimiento radicular (Giardina *et al.*, 2012). El Fe se absorbe por las raíces y se transporta a la parte aérea por transpiración, exceso de Fe provoca radicales libres que dañan las estructuras de las células. La entrada del Mn es por la raíz y es transportado a apoplasto. Las raíces que presentan toxicidad por Mn son de color marrón (Gill, 2014). El ion Pb traspasa la membrana plasmática de la epidermis y el córtex de las raíces y se une fuertemente a los grupos carboxilo del ácido galacturónico que esta en paredes celulares y restringe su transporte vía apoplasto lo que hace se acumule mayormente en raíces (Peláez *et al.*, 2014). El Zn entra por las raíces, la toxicidad limita el crecimiento de la parte aérea y raíz. Provoca deficiencia de fósforo (color rojo o violeta en las hojas) (Gill, 2014) (Figura 12).

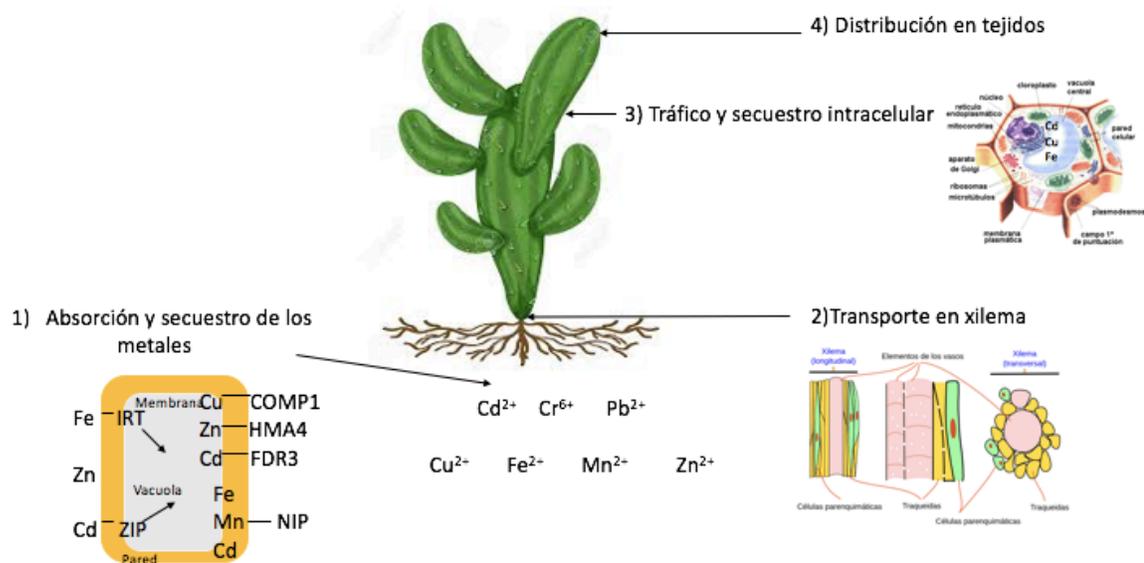


Figura 12. Distribución de los metales pesados en plantas

Mecanismos en plantas ante la presencia de metales pesados (Barceló y Poschenrieder, 1992; González-Mendoza *et al.*, 2008; Prieto *et al.*, 2009):

1) Mecanismos de absorción, transporte y acumulación de los metales por la planta.

La raíz es el órgano prioritario de entrada y acumulación de metales pesados. Se ha demostrado la compartimentación en vacuola y pared celular. La vía del apoplasto transporta sustancias diversas como sales minerales, es el primer filtro de difusión y de regulación en la endodermis.

2) Mecanismos primarios de su toxicidad a nivel molecular, celular y subcelular.

La célula presenta numerosos lugares de acción primaria, como la membrana (transportadores y sistemas de bomba), el núcleo y la pared celular. Se presentan efectos tóxicos primarios relacionados con la inhibición del crecimiento (principales posibilidades de toxicidad) disminución de la integridad de las membranas, efectos en el citoplasma y en los orgánulos y en la pared celular.

3) Mecanismos secundarios de interferencia con los procesos funcionales de las plantas.

Síntomas visibles de fitotoxicidad por metales pesados como reducción del crecimiento, sobre todo en raíces, clorosis y necrosis en hojas, senescencia y abscisión. Síntoma más característico de la toxicidad, es la reducción de la raíz, debido a los procesos fisiológicos modificados. Desequilibrio entre el balance de los nutrientes.

4) Mecanismos de respuesta homeostática.

Los mecanismos metabólicos y hormonales en las plantas contrarrestan la toxicidad y actúan a nivel celular e intercelular. Para los metales pesados la toxicidad inicia en la raíz y en menor concentración en las hojas (mecanismo de secuestro e inactivación en el citosol).

5) Mecanismos de resistencia frente al metal pesado.

Las plantas excluyen el metal o toleran el metal. Los principales mecanismos de resistencia o tolerancia son: 1) Retención del metal en la raíz o vías de conducción, 2) Inmovilización del metal en la pared celular, 3) Inmovilización en vacuolas, 4) La planta forma compuestos que secuestran e inactivan los metales tóxicos y 5) Tolerancia a los metales de los sistemas enzimáticos (Fitoquelatinas ante presencia de metales pesados).

Las especies *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana*, *A. palmeri*, *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe* tienen uso potencial para restaurar zonas contaminadas por metales pesados. La ecología de la restauración es una disciplina que recién comienza. Existen diferentes tipos de modelos de restauración, dependiendo el agente, el tipo y el nivel de degradación. Para las zonas afectadas por las actividades mineras se utiliza “la sustitución de un ecosistema totalmente destruido” donde se recupera el ecosistema al menos parcialmente, en funcionalidad y estructura (Navarro *et al.*, 2017).

***ANEXO H. Aceptación Artículo.**

8. CONCLUSIONES

En la etapa de propagación *in vitro*, se desarrollaron y probaron los diferentes protocolos para la propagación masiva de las plantas de zonas áridas de la familia Asparagaceae y Cactaceae.

En la etapa de enraizamiento fueron 14 especies de las 41 evaluadas, las que desarrollaron raíz en todos los tratamientos con metales pesados *A. celsii*, *A. chiapensis*, *A. osbcura*, *A. salmiana*, *A. palmeri*, *O. amyclaea*, *O. basilaris*, *O. cochenillifera*, *O. ficus-indica*, *O. macrocentra*, *O. robusta*, *P. sacharosa*, *P. chrysacanthus* y *P. chichipe*.

En presencia del metal cromo las especies evaluadas presentaron efectos medios y grave, obteniendo porcentajes bajos de superviviencia. Los géneros *Agave* y *Opuntia* fueron tolerantes a los tratamientos con metales pesados.

Con base a los resultados obtenidos, se clasificaron las plantas en fitoestabilizadoras, exclusoras, hiperacumuladoras e indicadoras. Las plantas fitoestabilizadoras y exclusoras se recomiendan para establecer programas de restauración de suelos de sitios contaminados con metales pesados; las plantas hiperacumuladoras e indicadoras presentarían buenos resultados en programas de remediación de suelos contaminados con metales pesados debido a sus características.

Finalmente es relevante resaltar que los resultados de este trabajo de investigación son muy importantes, no solo para programas de restauración y remediación, sino para programas de rescate, conservación y replantación de especies de zonas áridas amenazadas y/o en peligro de extinción.

9. Bibliografía

- Ahmad, N., Alatar, A.A., Faisal, M., Khan, Fatima, N., Anis, M. y Hegazy, A.K. 2014. Effect of copper and zinc on the *in vitro* regeneration of *Rauvolfia serpentina*. *Biología Plantarum*. 59(1):11- 17 pp.
- Akin-Idowu, P. E., Ibitoye, D. O. y Ademoyegun, O. T. 2009. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *African Journal of Biotechnology*. 8(16): 3782-3788 pp.
- Ali, S. Y. y Chaudhury, S. 2016. EDTA-Enhanced Phytoextraction by *Tagetes sp.* and effect on bioconcentration and translocation of heavy metals. *Environmental Processes*. 3(4): 735-746 pp.
- Arroyave, C., Araquem, P. y Pelaez, C. A. 2010. Evaluación de la bioacumulación y toxicidad de cadmio y mercurio en pasto llanero (*Brachiaria dictyoneura*). *Vitae. Universidad de Antioquia*. 17(1): 45-49 pp.
- Ashraf, M. A., Maah, M. J. y Yusoff, I. 2011. Heavy metals accumulation in plants growing in ex tin mining catchment. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 8(2):401-416 pp.
- Ayari, F., Hamdi, H., Jedidi, N., Gharbi, N. y Kossai, R. 2010. Heavy metal distribution in soil and plant in municipal solid waste compost amended plots. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 7(3): 465-472 pp.
- Azpilicueta, C., Pena, L. y Gallego, S. 2010. Los metales y las plantas: entre la nutrición y la toxicidad. *Ciencia Hoy*. 20(116): 12-16 pp.
- Babula P, Adam V, Opatrilova R, Zehnalek J, Havel L and Kizek R. 2010. Uncommon Heavy Metals, Metalloids and Their Plant Toxicity: A Review. *Organic, Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants, Sustainable Agriculture Reviews*. 275-317 pp.
- Balsberg, A. M. 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water, air and soil pollution*. 47(3-4): 287 -319 pp.
- Baker, A. J. M. y Brooks, R. R. 2007. Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements-A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery*. 1:81-126 pp.
- Barcelo, J, y Poschenrieder, Ch. 1992. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y planta*. 2:345-361 pp.

- Becerra, R. 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. CONABIO. Biodiversitas. 32:1-5 pp.
- Benavides, M.P., Gallego, S.M. y Tomaro, M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. Brazil Journal Physiology. 17(1): 21-34 pp.
- Benin, A. L., Sargent, J. D., Dalton, M. y Roda, S. 1999. High Concentrations of Heavy Metals in Neighborhoods Near Ore Smelters in Northern Mexico. Environmental Health Perspectives 107(4):279-284 pp.
- Boularbah, A., Schwartz, C., Bitton, G., Abouddrar, W., Ouhammou, A. y Morel, J. L. 2006. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2 Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. Elsevier. 63(5): 811-817 pp.
- Bouzon, Z. L., Ferreira, E. C, dos Santos, R., Scherner, F., Horta, P. A., Maraschin, M. y Schmidt E.C. 2012. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated *in vitro*. Protoplasma 24(3)9:637-650 pp.
- Cancino-Escalante, G. O., Quevedo, E., Villamizar, C. E. y Díaz, C. 2015. Propagación *in vitro* de materiales seleccionados de *Rubus glaucus Benth* (mora de Castilla) en la provincia de Pamplona región nororiental de Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología. 7-15 pp.
- Chang-Kee, J., Gonzales, M.J., Ponce, O., Ramírez, L., León, V., Torres, A., Corpus, M., Loayza, M. R. 2018. Accumulation of heavy metals in native Andean plants: potential tools for soil phytoremediation in Ancash (Perú). Environmental Science and Pollution Research. 25:33957–33966 pp.
- Chibuike, G. U. y Obiora, S. C. 2014. Heavy Metal Polluted Soils; Effect on Plants and Bioremediation Methods. Applied and Environmental Soil Science. 1-12 pp.
- Ciamporová, M., Staňová, A., Durisová, E. y Banášová, V. 2015. Tissue organization and cell ultrastructure in the roots of three Arabidopsis species grown at different zinc concentrations. Modern Phytomorphology 7:67-74 pp.
- Ceja, J., Espejo, A., López, A. R., García, J., Mendoza, A. y Pérez, B. 2008. Las plantas epífitas, su diversidad e importancia. Ciencias. 91: 35-41 pp.
- Cervantes, M. C. 2005. Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto de Geografía. UNAM. 35-41 pp.
- Chopra, I. C. y Paris, R. 1960. Medicinal plants of the arid zones. Educational, Scientific and Cultural Organization. Paris. 96 pp.
- Cortés, C. M., Sánchez, J. C. y Alvarado, M. 2008. Establecimiento de un sistema de

- micropropagación de *Peniosereus greggii* (Engelml) especie de cactácea en peligro de extinción. Britton & Rose. Revista Investigación Científica. 4(2): 3-7 pp.
- Cortés A. A, Sánchez-Fortún, S. y Bartolomé Ma. C. 2018. Mecanismos de resistencia a metales tóxicos (Cd) bajo variaciones abióticas en microalgas. Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 21(1):40-52 pp.
- Couselo, J. L., Corredoira, E., Vieitez, AM. y Ballester, A. 2010. Aplicación del cultivo *in vitro* de tejidos vegetales en estudios de fitorremediación. España. Revista Real Academia Galega de Ciencias. (i. e. 29:77-87) pp.
- Covarrubias, S. A., y Peña, J.J. 2017. Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 33:7-21 pp.
- Dargo, H. y Gebresilassie, M. 2014. Parameter Optimization for Metal (Mn, Cu, Ni) Digestion from Opuntia leaf. International Journal of Scientific Research Engineering and Technology. 3 (8): 252-257 pp.
- Davies, J., Poulsen, L., Schulte-Herbrüggen, B., Mackinnon, K., Crawhall, N., Henwood, W. DC., Dudley, N., Smith, J. y Gudka, M. 2012. Conserving Dryland Biodiversity. International Union for the Conservation of Nature, United Nations Environment Programme-World Conservation Monitoring Programme, and United Nations Convention to Combat Desertification. África. 84 pp.
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R. y Acevedo-Sandoval, O. 2011. Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 14:597-612 pp.
- Domínguez, M. S., González, Ma. de la L., Rosales Gómez C., Quiñones Valles, C., Delgadillo Díaz de León, S., Mireles, S. J. y Pérez, E. 2008. El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género *Agave*. Investigación y ciencia. UAA. 41:53-62 pp.
- Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Alberic ,P., Baillif, P., Label, P. y Morabito, D. 2010. Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* x *Populus alba*. BiologiaPlantarum 54(1): 191-194 pp.
- Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M.O. C. y Egwurugwu, J. N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. International Journal of Physical Sciences 2(5): 112-118 pp.
- Encina-Domínguez, J. A., Meave, J.A. y Zárate-Lupercio, A. 2013. Structure and woody species diversity of the *Dasyllirion cedrosanum* (Nolinaceae) rosette scrub of central and southern Coahuila state, Mexico. Botanical Sciences. 91(3): 335-347 pp.

- Escobar A, H. A., Villalobos A, V. M. y Villegas M, A. 1986. *Opuntia* micropropagation by axillary proliferation. *Plan Cell, Tissue and Organ Culture*. 7(3): 269-277 pp.
- Esetlili, B. C., Pekcan, T., Çobanoğlu, Ö., Aydoğdu, E., Turan, S. y Anaç, D. 2014. Essential plant nutrients and heavy metals concentrations of some medicinal and Aromatic plants. *Journal of Agricultural Sciences*. 20: 239-247 pp.
- Estudio de Estado. La Biodiversidad en Aguascalientes: 2008. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Instituto del Medio Ambiente del Estado de Aguascalientes (IMAE), Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). México. 389 pp.
- Fu, S., Wei, C., Xiao, Y. y Wu, D. 2019. Heavy metals uptake and transport by native wild plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environmental Earth Sciences*. 78:103 pp.
- Gatti, E. 2008. Micropropagation of *Ailanthus altissima* and *in vitro* heavy metal tolerance. *Biologia Plantarum*. 52(1): 146-148 pp.
- Ghosh, M. y Singh, S. P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Applied Ecology Asian Journal on Energy and Environmental Research*. 3(1):1-18 pp.
- Gill, Mukti. 2014. Heavy metal stress in plants: a review. *International Journal of Advanced Research*. 2(6): 1043-1055 pp.
- Giampaoli, P., Tresmondi, F., Lima, G.P.P., Kanashiro, S., Alves, E. S., Domingos, M. y Tavares, A. R. 2012. Analysis of tolerance to copper and zinc in *Aechmea blanchetiana* grown *in vitro*. *Biología Plantarum*. 1- 8 pp.
- Giardina, E. B., Heredia, O. S., Castro, M. A. y Effron, D. N. 2012. Fitotoxicidad del cromo sobre *Phaseolus vulgaris* L. *Agronomía y ambiente*. 32(1-2):75-80 pp.
- González, F. 2012. Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología.
- González-Pineda, B., Velásquez-Manzanares, M., Amador-Hernández, J., Ramírez-Fuentes, E. y Trujillo-Tapia, M. N. 2006. Efecto de la aplicación del cromo en el crecimiento y producción de maíz (*Zea mays*). *Revista internacional de contaminación ambiental*. 1 -10 pp.
- Granados-Sánchez, D. y López-Ríos, G. F. 1998. *Yucca* "Izote" del Desierto. *Revista Chapingo*. 4(1):179-192 pp.

- González-Mendoza, D. y Zapata-Pérez, O. 2008. Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 82:53-61 pp.
- Guala, S. D, Vega, F. A. y Covelo, E. F. 2010. The dynamics of heavy metals in plant-soil interactions. Ecological Modelling 221(8): 1148-1152 pp.
- Gunsé D. B. 1987. Efectos del Cromo sobre la nutrición y relaciones hídricas de *Phaseolus vulgaris*. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Ciencias. Tesis de doctorado. 209 pp.
- Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany. 53(366): 1-11 pp.
- Hernández, M. H., Gómez-Hinostrosa, C. y Goettsch, B. 2004. Checklist of Chihuahuan desert cactaceae. United states and mexican boundary. 55-68 pp.
- Hesami, R., Salimi, A. y Ghaderian, S. M. 2018. Lead, zinc and cadmium uptake, accumulation, and phytoremediation by plants growing around Tang-e Douzan lead-zinc mine, Iran. Environmental Science and Pollution Research. 25:8701-8714 pp.
- Hochstrasser, T., Kröel-Dulay., G., Peters, D. P. C. y Gosz., J. R. 2002. Vegetation and climate characteristics of arid and semi-arid grasslands in North America and their biome transition zone. Journal of Arid Environments 51: 55-78 pp.
- Hurrell, J. A. y Delucchi, G. 2012. Familia Asparagaceae. Flora del Valle de Lerma. 11: 1-12 pp.
- INIFAP y SEMARNAT. 2009. Manual que establece los criterios técnicos para el aprovechamiento sustentable de recursos forestales no maderables de clima árido y semiárido. Subsecretaría de fomento y normatividad ambiental. México. 107 pp.
- Jiménez-Sierra C. L. 2011. Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. Revista digital universitaria. 12(1): 1-5 pp.
- Johri, M. y Mitra D. 2011. Action of plant hormones. Current Science. 80(2): 199-205 pp.
- Kalisová-Spirochová, I., Puncocharová, J., Kafka, Z., Kubal, M., Soudek, P. y Vanek, T. 2003. Accumulation of heavy metals by *in vitro* cultures of plants. Water, Air and Soil Pollution. 3: 269 -276 pp.
- Karpov, P. 2004. Clonal propagation of *Yucca aloifolia* L. Acta Universitatis Latviensis, Biology. 676. 177-182 pp.

- Kende, H. y Zeevaart, J. 1997. The five classical plant hormones. *The plant cell*. 9(7): 1197-1210 pp.
- Kirkby, E y Römheld, V. 2008. Micronutrientes en la fisiología de las plantas: funciones, absorción y movilidad. *Informaciones agronómicas*. 68: 1-6 pp.
- Kumar, S., Narula, A., Sharma, M. P. y Srivastava, P. S. 2004. *In vitro* propagation of *Pluchea Lanceolata*, a medicinal plant, and effect of heavy metals and different aminopurines on quercetin content. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*(2): 171–176 pp.
- León, M. J. y Sepúlveda-Jiménez, G. 2012. El daño por oxidación causado por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas. *Interciencia*. 37(12):804-811 pp.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E. y Mroginski. 2010. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. 648 pp.
- Liu, L., Sun, H., Chen, J., Zhang, Y., Li, D. y Li, C. 2014. Effects of cadmium (Cd) on seedling growth traits and photosynthesis parameters in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Omics Journal*. 7(4): 284-290 pp.
- López, Escamilla, A. L. 2005. Propagación *in vitro* de cactáceas amenazadas y/o en peligro de extinción del estado de Coahuila. Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 20 pp.
- López-Martínez, S., Gallegos-Martínez, M. E., Pérez, L. J. y Gutiérrez, M. 2005. Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 21(2): 91-100 pp.
- Mahmood, T., Islam, K, R. y Muhammad, S. 2007. Toxic effects of heavy metal on early growth and tolerance of cereal crops. *Pakistan Journal of Botany*. 39(2): 451-462 pp.
- Martínez-Hernández, S., Sánchez-González, A., Martínez-Falcón, A. P., Núñez de Cáceres-González, F. F. y Octavio-Aguilar. 2016. Bacterias y plantas ¿son útiles en la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos?. *TecnoIntelecto*. 13(1):1-10 pp.
- Mata, M., Monroy, M. A., Moebius, K. y Chávez, V. M. 2001. Micropropagation of *Turbinicarpus Laui* Glass Et Foster, an endemic and endangered species. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 37(3):400-404 pp.
- Mendoza, A. J. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 14-23 pp.
- Meza, N. M. V. 2011. Segundo informe referente a la realización de la asesoría número INE/ADA-026/2011 denominada “cactáceas mexicanas: usos y amenazas”. 1209 pp.

- Molero, M., Gutiérrez, L., Contreras, Q., Rondón, C., Carrero, P. y Rojas, E. R. 2008. Determinación de los niveles de: K, P, N, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe y Mn en muestras de suelo y tejido foliar del cultivo *Musa* ABB, subgrupo plátano c. Harton. Producción Agropecuaria. Universidad Nacional Experimental de Sur del Lago “Jesús María Semprum”. 1(1): 3-6 pp.
- Morales, N., Ledesma, J. C., Ruiz, R., Gallegos, C., Esparza, G. y Macías, F. J. 2002. Aprovechamiento racional del maguey (*Agave salmiana*) en San Martín, Pinos, Zac. Revista de Geografía Agrícola. 32:75-94 pp.
- Mudgal, V., Madaan N. y Mudgal, A. 2010. Heavy metals in plants: phytoremediation: Plants used to remediate heavy metal pollution. Agriculture and Biology Journal of North America. 2151-7517 pp.
- Murashige, T y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473–497 pp.
- Navarro-Aviñó, J. P., Aguilar, I. y López-Moya, J.R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 16(2): 10-25 pp.
- Navarro, J.A., Goberna, M., González, G., Castillo, V.M. y Verdú, M. 2017. Restauración ecológica en ambientes semiáridos recuperar las interacciones biológicas y las funciones ecosistémicas. CSIC. España. 159 pp.
- Nobel, P. S. 2003. *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press. UK. 270 pp.
- Ortega-Ortega, R. E., Beltrán Herrera, J. D. y Marrugo Negrete, J. L. 2011. Acumulación de mercurio (Hg) por caña de flecha (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv. *in vitro*. Revista Colombiana de Biotecnología. 13: (1) 33-41 pp.
- Ortiz-Castro, R., Marínez-Trujillo, M., López-Bucio, J., Cervantes, C. y Carreón-Abud Y. 2008. Restauración del crecimiento radical por nutrientes inorgánicos en *Arabidopsis thaliana* L. expuesta a cromo. *Terra Latinoamericana*. 27(2): 97-103 pp.
- Peláez, M. Casierra-Posada, F. y Torres, G. A. 2014. Tóxicidad de cadmio y plomo en pasto Tanner *Brachiaria arrecta*. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 31(2):3-13 pp.
- Peralta-Pérez, M. del R. y Volke-Sepúlveda, T. L. 2012. La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 11(1): 75-88 pp.
- Peer, W. A., Baxter, I. R., Richards, E. L., Freeman, J.L. y Murphy, A.S. 2005.

Phytoremediation and hyperaccumulator plants. En: Tamas M.J., Martinoia E. (eds) Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification. Topics in Current Genetics, vol 14. Springer, Berlin, Heidelberg. 299- 288 pp.

Pernía, B., DeSousa, A., Reyes, R. y Castillo, M. 2008. Biomarcadores de contaminación por Cd en las plantas. *Interciencia*. 33:112-119 pp.

Pérez, E., Pérez, M. E., Villalobos, E., Meza, E.; Morones, L. del R. y Lizalde Viramontes, H. J. 1998. Micropropagation of 21 species of mexican cacti by axillary proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 34. 131-135 pp.

Pérez-Molphe-Balch, E. y Ramírez, R. 1999. Introducción al cultivo de tejidos vegetales. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. 1-179 pp.

Perveen, S., Anis, M. y Aref, I. M. 2012. *In vitro* morphogenic response and metal accumulation in *Albizia lebbek* L. cultures grown under metal stress. *European Journal of Forest Research*. 131(3): 669–681 pp.

Pollard, J.W. y Walker J. M. 1990. Plant cell and tissue culture. Human Press. 597 pp.

Prasad, K., Kumar, N. y Sharma, S. 2010. Bioremediation: Developments, Current Practices and Perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal* 3: 1-19 pp.

Prieto, J., González, C. A., Gutiérrez, A. y Prieto, F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10(1): 29-44 pp.

Ramana, S., Srivastava, S., Biswas, Ashis, K., Kumar, A., Singh, B., Singh, D. y Rajput, P. S. 2016. Assessment of century plant (agave americana) for remediation of chromium contaminated soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 87(4), 1159-1165 pp.

Ramos-Gómez, M., Avelar, J., Mendel-Reyes, A., Yamamoto, L., Godínez, L., Ramírez, M., Guera, R. y Rodríguez, F. 2012. Movilidad de metales en jales procedentes del distrito minero de Guanajuato, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 28(1): 49-59 pp.

Rascio, N. y Navari-Izzo. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting. *Plant Science*. 180(2):169-181 pp.

Reyes, A. I., Morales, C. F., Pérez, M. E. y Pérez, E. 2013. Propagación *in vitro* de nolináceas mexicanas. *Investigación y Ciencia*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 21:(58)12-20 pp.

Retes-Pruneda, J. L., Valadez-Aguilar, M. de L., Pérez-Reyes, M. E. y Pérez-Molphe-Balch, E. 2007. Propagación *in vitro* de especies de *Echinocereus*, *Escontria*, *Mammillaria*,

Melocactus y *Polaskia* (Cactaceae). Boletín de la Sociedad Botánica de México. 81:9-16 pp.

Rivera-Lugo y Solano. 2012. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. 99:1-68 pp.

Robles, A. y España, J. L. 2008. Biomasa y forraje, distribución espacial y abundancia de la planta de sotol (*Dasyllirion spp.*) en el ejido el jazmín, Mazapil, Zacatecas, México. Revista Investigación Científica. 4(2): 1-9 pp.

Rodríguez, M., Martínez, N., Romero, M. C. y Rio, L. D. 2008. Toxicidad de cadmio en plantas. Ecosistemas. 17(3):139-196 pp.

Rubio, C., González, D., Martín-Izquierdo, R.E., Revert, C., Rodríguez, I. y Hardisson, A. 2007. El zinc: oligoelemento esencial. Nutrición Hospitalaria. 22(1):101-107 pp.

Ruvalcaba-Ruiz, D., Rojas-Bravo, D. y Valencia-Botín, A. J. 2010. Propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* (Britton and Rose) un cactus endémico y amenazado. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 12:139 -143 pp.

Santos-Díaz, M. S., Pérez-Molphe, E., Ramírez-Malagón, R., Núñez-Palenius, H. G. y Ochoa-Alejo, N. 2010. Mexican threatened Cacti: Current status and strategies for their conservation. En: Species Diversity and Extinction, capítulo 1. Geraldine H. Tepper (Ed). Nova Science Publisher, Inc. Pág. 1-60 pp.

Salas-Luévano, M. A., Mauricio-Castillo, J. A., González-Rivera, M. L., Vega-Carrillo, H. R. 2017. Accumulation and phytostabilization of As, Pb and Cd in plants growing inside mine tailings reforested in Zacatecas, México. 76:806.

Sarangi, B. K. y Chakrabarti, T. 2008. Characterization of an ecotype of brake-fern *Pteris vittata* for Arsenic tolerance and accumulation in plant biomass. Cytology and Genetics. 42 (5)16-31 pp.

Scott, F. 2005. Biological Science. Pearson Prentice Hall. Estados Unidos. 854 pp.

Sharma, A. K. y Tewari, J. C. 2005. Arid zone forestry with special reference to indian hot arid zone. Forest and Forest plants. 2:1-12 pp.

Srivastava, N. 2016. Phytoremediation. Chapter 13. Role of phytochelatins in phytoremediation of heavy metals contaminated soils. Springer International Publishing Switzerland. 393-419 pp.

Sruthi Palliyath, Shackira Abdul M. y Puthur Jos T. (2017). Heavy metal detoxification mechanisms in halophytes: an overview. Wetlands Ecology and Management. 25:129-148 pp.

Soriano-Disla, JM, Gómez I, Navarro-Pedreño J y Jordán MM (2014) The transfer of heavy metals to barley plants from soils amended with sewage sludge with different heavy metal burdens. *Journal of Soils and Sediments*. 14:687-696 pp.

Tamás, J. y Kovács, A. 2005. Vegetation pattern and heavy metal accumulation at a mine tailing at Gyöngyösroszi, Hungary. *Zeitschrift für Naturforschung C. Journal of biosciences*.60(3-4): 362-367 pp.

Téllez J. 2012. Morfogénesis *in vitro* de cactáceas. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados. México. 171 pp.

Torres, I., Casa, A., Delgado-Lemus, A. y Rangel-Landa, S. 2013. Aprovechamiento, demografía y establecimiento de *Agave potatorum* en el Valle de Tehuacán, México: aportes ecológicos y etnobiológicos para su manejo sustentable. *Zonas Áridas*. 15(1): 92-109 pp.

Torres, O., Garza, L., Abrego V., Bernal M. A. y Piñeyro A. 2001. Contaminación ambiental y salud. 4(1):76-82 pp.

Usha, B., Venkataraman, G. y Parida, A. 2009. Heavy metal and abiotic stress inducible metallothionein isoforms from *Prosopis juliflora* (SW) D. C. show differences in binding to heavy metals *in vitro*. *Molecular Genetics Genomics*. 281: 99-108 pp.

Utkarsha, U., Vinayak, S., Jyoti, P. y Vishwas, A.(2010). Opuntia and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. *Tropical Plant Biol* 3:136-150 pp.

Vargas-Palomino, L., Martínez-Trujillo, M., Ortiz-Castro, R. y López-Bucio, J. 2007. Efectos de metales pesados sobre el crecimiento de la raíz primaria de *Arabidopsis thaliana* L. *Ciencia Nicolaita*. 49: 101–121 pp.

Vázquez-Sánchez, M., Terrazas, T. y Arias, S. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu Cacteeae (cactaceae, cactoideae). *Botanical Sciences*. 90 (2): 97-108 pp.

Wuana, R. A. y Okieimen, F. E. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *International Scholarly Research Network-Ecology*. 2:11-20 pp.

Zitka, O., Krystofova, O., Hynek, D., Sobrova, P., Kaiser, J., Sochor, J., Zehnalek, J., Babula, P., Ferro, N., Kizek, R. y Vojtech, A. 2013. Metal transporters in plants. Heavy metals stress in plants. Gupta, D.K., Corpas, F.J., Palma, J.M. (Eds.). Springer. Heidelberg. 19-41 pp.

Zwane, P. E. , Masarirambi, M. T., Magagula, N. T., Dlamini, A. M. y Bhebhe, E. 2011.
Exploitation of *Agave americana* L. plant for food security in Swaziland. American
journal of food and nutrition. 1(2): 82-88 pp.



10.ANEXOS

ANEXO A. Resultados de brotación etapa de multiplicación

Cuadro A. Promedio del número de brotes por explante y longitud

| Especie | Número de brotes por explante | Longitud del brote (cm) |
|---|-----------------------------------|-------------------------|
| Familia Asparagacea | | |
| 1. <i>Agave bracteosa</i> | 2.6 ^a ± 1 ^b | 2.5 ± 0.5 |
| 2. <i>Agave celsii</i> | 3.6 ± 0.6 | 3.9 ± 0.6 |
| 3. <i>Agave chiapensis</i> | 2.8 ± 0.5 | 3.5 ± 0.6 |
| 4. <i>Agave difformis</i> | 2.3 ± 0.3 | 2 ± 0.1 |
| 5. <i>Agave funkiana</i> | 3.8 ± 1.3 | 2.8 ± 0.5 |
| 6. <i>Agave obscura</i> | 4.4 ± 0.5 | 3.5 ± 1.2 |
| 7. <i>Agave palmeri</i> | 1.8 ± 0.5 | 2.1 ± 0.3 |
| 8. <i>Agave peacockii</i> | 2.3 ± 1.1 | 2 ± 0.6 |
| 9. <i>Agave potatorum</i> | 2.7 ± 0.5 | 3 ± 0.8 |
| 10. <i>Agave victoria-reginae</i> | 3.1 ± 0.5 | 3.4 ± 0.9 |
| 11. <i>Agave salmiana</i> | 3.5 ± 0.9 | 4.1 ± 0.8 |
| 12. <i>Agave titanota</i> | 2.7 ± 0.4 | 3.2 ± 0.5 |
| 13. <i>Beaucarnea goldmanii</i> | 5 ± 1.4 | 7.3 ± 0.9 |
| 14. <i>Beaucarnea recurvata</i> | 5.7 ± 1.6 | 6.6 ± 0.6 |
| 15. <i>Dasyilirion acrotriche</i> | 4.7 ± 1.4 | 8.5 ± 0.5 |
| 16. <i>Dasyilirion glaucophyllum</i> | 4.4 ± 0.6 | 7.8 ± 0.9 |
| 17. <i>Nolina durangensis</i> | 5.6 ± 0.5 | 8.5 ± 0.5 |
| 18. <i>Yucca carnerosana</i> | 3.5 ± 0.6 | 7.4 ± 0.4 |
| 19. <i>Yucca filamentosa</i> | 4.1 ± 0.7 | 7.2 ± 0.5 |
| 20. <i>Yucca filifera</i> | 4.3 ± 0.5 | 7.3 ± 0.4 |
| Familia Cactaceae | | |
| 21. <i>Echinocereus ferreirianus var lindsayi</i> | 2.1 ± 0.3 | 2.2 ± 0.2 |
| 22. <i>Echinocereus knippelianus</i> | 3.5 ± 0.7 | 3.5 ± 0.5 |
| 23. <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> | 2.3 ± 0.3 | 2 ± 0 |
| 24. <i>Echinocereus spinigemmatum</i> | 3.2 ± 1.1 | 2 ± 0 |
| 25. <i>Echinocereus triglochidiatus</i> | 5.1 ± 0.1 | 3.1 ± 0.3 |

| | | |
|---|-----------|-----------|
| 26. <i>Ferocactus peninsulae</i> | 2 ± 0.4 | 2.1 ± 0.3 |
| 27. <i>Hylocereus undatus</i> | 6.6 ± 1.2 | 3 ± 0.8 |
| 28. <i>Myrtillocactus cochal</i> | 2.2 ± 0.5 | 2.3 ± 0.5 |
| 29. <i>Myrtillocactus geometrizzans</i> | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.2 |
| 30. <i>Opuntia amyclaea</i> | 4.3 ± 1.2 | 3.4 ± 0.5 |
| 31. <i>Opuntia basilaris</i> | 6.4 ± 1 | 3.3 ± 0.6 |
| 32. <i>Opuntia cochenillifera</i> | 5.8 ± 0.7 | 3.2 ± 0.5 |
| 33. <i>Opuntia ficus - Indica</i> | 3.7 ± 1.1 | 4.1 ± 0.7 |
| 34. <i>Opuntia macrocentra</i> | 3.6 ± 0.9 | 2.7 ± 0.5 |
| 35. <i>Opuntia robusta</i> | 3.8 ± 0.8 | 3 ± 0.8 |
| 36. <i>Peniocereus greggii</i> | 2.5 ± 0.4 | 2.9 ± 0.6 |
| 37. <i>Pereskia sacharosa</i> | 2.4 ± 0.3 | 2.9 ± 0.6 |
| 38. <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> | 2.8 ± 0.4 | 2.1 ± 0.3 |
| 39. <i>Polaskia chichipe</i> | 3 ± 0.2 | 2 ± 0.7 |
| 40. <i>Selenicereus validus</i> | 5.3 ± 1.2 | 2.2 ± 0.5 |
| 41. <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 2.8 ± 1.1 | 2.7 ± 0.6 |

a = media b = Desviación estándar n = 16

ANEXO B. Presencia y/o ausencia de brote y raíz en las 41 especies.

Cuadro B. Presencia y/o ausencia de brote y de raíz

| Familia | Control | | Cd | | Cu | | Cr | | Fe | | Mn | | Pb | | Zn | |
|----------------------------|---------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
| | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| Agavaceae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Especies | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 1. <i>Agave bracteosa</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2. <i>Agave celsii</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3. <i>Agave chiapensis</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4. <i>Agave difformis</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 5. <i>Agave funkiana</i> | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 6. <i>Agave obscura</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 7. <i>Agave palmeri</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 8. <i>Agave peacockii</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 9. <i>Agave potatorum</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| 10. <i>Agave victoria-reginae</i> | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 11. <i>Agave salmiana</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 12. <i>Agave titanota</i> | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 13. <i>Beaucarnea goldmanii</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 14. <i>Beaucarnea recurvata</i> | + | + | + | + | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - |
| 15. <i>Dasyliirion acrotriche</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + |
| 16. <i>Dasyliirion glaucophyllum</i> | + | + | + | + | + | - | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 17. <i>Nolina durangensis</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 18. <i>Yucca carnerosana</i> | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | + | - | + | - | + | + |
| 19. <i>Yucca filamentosa</i> | + | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 20. <i>Yucca filifera</i> | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Familia | Control | | Cd | | Cu | | Cr | | Fe | | Mn | | Pb | | Zn | |
| Cactaceae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Especies | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 21. <i>Echinocereus ferreirianus var lindsayi</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 22. <i>Echinocereus knippelianus</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 23. <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 24. <i>Echinocereus spinigemmatum</i> | + | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + |
| 25. <i>Echinocereus triglochidiatus</i> | + | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | - |
| 26. <i>Ferocactus peninsulae</i> | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 27. <i>Hylocereus undatus</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 28. <i>Myrtillocactus cochal</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 29. <i>Myrtillocactus geometrizans</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 30. <i>Opuntia amyclaea</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 31. <i>Opuntia basilaris</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 32. <i>Opuntia cochenillifera</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 33. <i>Opuntia ficus - Indica</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 34. <i>Opuntia macrocentra</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 35. <i>Opuntia robusta</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 36. <i>Peniocereus greggii</i> | + | + | + | - | + | - | + | - | + | - | + | + | + | - | + | - |
| 37. <i>Pereskia sacharosa</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 38. <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 39. <i>Polaskia chichipe</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 40. <i>Selenicereus validus</i> | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 41. <i>Stenocereus queretaroensis</i> | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |

(+) = Presente (-) = Ausente n=9

ANEXO C. Longitud de la parte aérea de las plántulas.

Cuadro C. Longitud (cm) de la parte aérea de las plántulas expuestas a los tratamientos control y con metales pesados.

| Agavaceae | Control | Cd | Cu | Cr | Fe | Mn | Pb | Zn |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1. <i>Agave bracteosa</i> | 5.6 ^a ± 0.8 ^b | 2.6 ± 0.5 | 3.2 ± 1.6 | 2.3 ± 0.3 | 2.7 ± 0.5 | 2.2 ± 0.2 | 2.1 ± 0.1 | 4.1 ± 1.6 |
| 2. <i>Agave celsii</i> | 5.8 ± 0.4 | 3.5 ± 0.5 | 5.8 ± 0.3 | 2 ± 1.4 | 3.6 ± 0.7 | 5.3 ± 1.7 | 3.6 ± 0.5 | 3.1 ± 0.2 |
| 3. <i>Agave chiapensis</i> | 5.3 ± 0.6 | 3.2 ± 0.3 | 3.3 ± 0.6 | 2.9 ± 0.4 | 3 ± 0.2 | 6.9 ± 0.4 | 2.9 ± 0.2 | 3.3 ± 0.6 |
| 4. <i>Agave difformis</i> | 3.3 ± 0.6 | 3.7 ± 0.5 | 2.3 ± 0.5 | 2.1 ± 0.2 | 2.3 ± 0.5 | 2.4 ± 0.8 | 2.3 ± 0.6 | 2.6 ± 0.9 |
| 5. <i>Agave funkiana</i> | 2.8 ± 0.3 | 2.7 ± 0.6 | 2.9 ± 0.2 | 2.3 ± 0.4 | 2.7 ± 0.4 | 5.1 ± 0.5 | 2.4 ± 0.5 | 5.3 ± 0.6 |
| 6. <i>Agave obscura</i> | 6.2 ± 0.3 | 5.8 ± 0.4 | 3.5 ± 0.5 | 2.2 ± 0.3 | 2.7 ± 0.6 | 3.5 ± 0.5 | 3.8 ± 0.4 | 3 ± 1 |
| 7. <i>Agave palmeri</i> | 3.4 ± 0.5 | 2 ± 1.6 | 2.5 ± 0.5 | 2.4 ± 0.5 | 3 ± 0.2 | 2.8 ± 0.4 | 2.4 ± 0.5 | 2.5 ± 0.5 |
| 8. <i>Agave peacockii</i> | 2.4 ± 0.5 | 2.2 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 | 2.3 ± 0.5 | 2.2 ± 0.3 | 3.8 ± 0.7 | 3 ± 0.9 | 3.3 ± 0.6 |
| 9. <i>Agave potatorum</i> | 4.7 ± 0.6 | 5.7 ± 0.6 | 4.7 ± 1.5 | 2.1 ± 0.2 | 3.2 ± 0.3 | 5.7 ± 1.6 | 5.7 ± 1.5 | 6.1 ± 0.2 |
| 10. <i>Agave victoria-reginae</i> | 3.3 ± 0.6 | 2.3 ± 0.5 | 3 ± 0.5 | 2.3 ± 0.4 | 3.2 ± 0.3 | 3.3 ± 0.6 | 3 ± 0.9 | 3.8 ± 0.8 |
| 11. <i>Agave salmiana</i> | 6.7 ± 0.6 | 4.4 ± 0.9 | 4.5 ± 0.5 | 3.3 ± 0.6 | 3.8 ± 0.5 | 5.5 ± 0.9 | 5.7 ± 1.5 | 5.3 ± 0.1 |
| 12. <i>Agave titanota</i> | 3.4 ± 0.5 | 3.2 ± 0.7 | 2.2 ± 0.3 | 2.8 ± 0.3 | 3.9 ± 0.3 | 2.9 ± 0.2 | 3.5 ± 0.5 | 2.8 ± 0.3 |
| 13. <i>Beaucarnea goldmanii</i> | 7.2 ± 0.7 | 3.8 ± 1.1 | 5.9 ± 0.3 | 2.4 ± 2.2 | 3.5 ± 2.1 | 5.2 ± 0.8 | 4 ± 1 | 5.7 ± 0.5 |
| 14. <i>Beaucarnea recurvata</i> | 6.2 ± 0.3 | 5 ± 0.9 | 6.8 ± 0.2 | 4.7 ± 0.4 | 6.5 ± 0.5 | 7.6 ± 0.5 | 4 ± 1 | 6.4 ± 0.4 |

| | | | | | | | | |
|---|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 15. <i>Dasyliirion acrotriche</i> | 6.7± 1.5 | 4.9 ± 1 | 6.2 ± 1.4 | 2.1 ± 1 | 5.3 ± 1.2 | 6.2 ± 0.7 | 2.5 ± 0.9 | 6.7 ± 0.6 |
| 16. <i>Dasyliirion glaucophyllum</i> | 7.3 ± 1.5 | 4.7 ± 2.3 | 6.5 ± 0.5 | 0 | 3.5 ± 2.2 | 5.7 ± 0.6 | 5 ± 2.6 | 6.5 ± 0.5 |
| 17. <i>Nolina durangensis</i> | 8.8 ± 0.3 | 3.4 ± 2.2 | 6.1 ± 0.2 | 0.8 ± 1.5 | 2.7 ± 1.2 | 4.7 ± 1.1 | 2.1 ± 0.1 | 5.3 ± 2.7 |
| 18. <i>Yucca carnerosana</i> | 8.4 ± 0.5 | 4.3 ± 2.1 | 4.8 ± 0.3 | 3.4 ± 0.5 | 3.1 ± 1.1 | 4.7 ± 1.5 | 6.4 ± 0.8 | 2.9 ± 0.9 |
| 19. <i>Yucca filamentosa</i> | 7.4 ± 0.5 | 4.1 ± 0.9 | 4.9 ± 1.1 | 3.3 ± 0.6 | 5.4 ± 1.2 | 6.2 ± 0.3 | 5.7 ± 0.6 | 4.3 ± 1.2 |
| 20. <i>Yucca filifera</i> | 7.3 ± 0.6 | 5.2 ± 0.7 | 3.3 ± 1.2 | 1.7 ± 1.2 | 3.2 ± 0.8 | 4.8 ± 1.3 | 3.1 ± 0.2 | 3.2 ± 0.3 |
| Cactaceae | Control | Cd | Cu | Cr | Fe | Mn | Pb | Zn |
| 21. <i>Echinocereus ferreirianus var lindsayi</i> | 2.5 ± 0.2 | 2.1 ± 0.1 | 2.7 ± 0.6 | 2.1 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 | 3.5 ± 0.5 | 2.8 ± 0.3 | 3.4 ± 0.4 |
| 22. <i>Echinocereus knippelianus</i> | 3.6 ± 0.3 | 2.8 ± 0.4 | 2.8 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.5 | 3.8 ± 0.3 | 3.5 ± 0.9 | 4.1 ± 1.1 |
| 23. <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> | 2.3 ± 0.3 | 2.1 ± 0.3 | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.2 | 2.1 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.1 ± 0.2 |
| 24. <i>Echinocereus spinigemmatius</i> | 4.5 ± 0.5 | 2.5 ± 0.5 | 2.6 ± 0.8 | 2.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 3.3 ± 0.2 | 2.5 ± 0.5 | 2.3 ± 0.6 |
| 25. <i>Echinocereus triglochidiatus</i> | 3.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.5 | 2.3 ± 0.4 | 2.2 ± 0.2 | 2.3 ± 0.5 | 5.7 ± 0.6 | 2.3 ± 0.6 | 2.8 ± 1.1 |
| 26. <i>Ferocactus peninsulae</i> | 2.7 ± 0.6 | 2.4 ± 0.4 | 3.5 ± 0.4 | 2.3 ± 0.4 | 2.2 ± 0.2 | 2.3 ± 0.2 | 2.1 ± 0.2 | 2.3 ± 0.6 |
| 27. <i>Hylocereus undatus</i> | 3.2 ± 0.3 | 2.6 ± 0.3 | 3.1 ± 0.4 | 3.1 ± 0.2 | 2.3 ± 0.6 | 3.9 ± 0.8 | 2.6 ± 0.5 | 3.8 ± 0.3 |
| 28. <i>Myrtillocactus cochal</i> | 2.5 ± 0.5 | 2.5 ± 0.5 | 2.2 ± 0.3 | 2.1 0.2± | 2 ± 0.5 | 2.7 ± 1.2 | 2.1 ± 0.1 | 2.4 ± 0.5 |
| 29. <i>Myrtillocactus geometrizans</i> | 2.4 ± 0.6 | 2.8 ± 0.4 | 1.9 ± 0.2 | 2.2 ± 0.2 | 2 ± 0.2 | 3.1 ± 0.1 | 2.7 ± 0.4 | 3 ± 0.1 |
| 30. <i>Opuntia amyclaea</i> | 5.3 ± 0.6 | 5.3 ± 0.6 | 2.8 ± 0.2 | 2.5 ± 0.5 | 2.9 ± 0.3 | 4.5 ± 0.5 | 4.4 ± 0.5 | 3.3 ± 0.6 |
| 31. <i>Opuntia basilaris</i> | 3.5 ± 0.9 | 3.3 ± 0.5 | 3.5 ± 0.5 | 2.3 ± 0.3 | 2.4 ± 0.5 | 4.3 ± 2.1 | 2.3 ± 0.2 | 3.9 ± 0.6 |
| 32. <i>Opuntia cochenillifera</i> | 5.7 ± 0.6 | 2.8 ± 0.3 | 2.3 ± 0.2 | 3.2 ± 0.2 | 2.7 ± 0.6 | 5.8 ± 0.8 | 2.4 ± 0.4 | 3.5 ± 0.5 |
| 33. <i>Opuntia ficus - Indica</i> | 5.1 ± 1.1 | 3.8 ± 0.2 | 2.9 ± 0.7 | 3.7 ± 0.5 | 2.5 ± 0.9 | 6.3 ± 0.6 | 3.5 ± 0.5 | 3 ± 0.2 |
| 34. <i>Opuntia macrocentra</i> | 3.2 ± 0.2 | 2.7 ± 0.5 | 2.7 ± 0.6 | 3.1 ± 1.1 | 2.2 ± 0.3 | 5.8 ± 0.8 | 2.4 ± 0.5 | 3 ± 1 |
| 35. <i>Opuntia robusta</i> | 4.7 ± 0.6 | 2.9 ± 0.3 | 3.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.5 | 3.2 ± 0.8 | 5.7 ± 0.6 | 3.5 ± 0.5 | 4.1 ± 0.1 |
| 36. <i>Peniocereus greggii</i> | 2.2 ± 0.2 | 2.7 ± 0.6 | 2.5 ± 0.5 | 2.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.4 | 3.3 ± 1.5 | 3.2 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 |
| 37. <i>Pereskia sacharosa</i> | 4.3 ± 0.6 | 3.3 ± 0.5 | 2.7 ± 0.6 | 3.6 ± 1.5 | 3.2 ± 0.8 | 5.7 ± 0.6 | 4.5 ± 0.5 | 2.9 ± 0.2 |
| 38. <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> | 2.6 ± 0.4 | 2.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.3 ± 0.5 | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 |
| 39. <i>Polaskia chichipe</i> | 2.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.4 | 2.3 ± 0.2 | 2.1 ± 0.2 | 2.4 ± 0.4 | 2.1 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 | 2.1 ± 0.3 |
| 40. <i>Selenicereus validus</i> | 2.7 ± 0.6 | 2.7 ± 0.6 | 2.2 ± 0.3 | 2.1 ± 1 | 2.7 ± 0.6 | 3.3 ± 0.6 | 2.3 ± 0.4 | 2.7 ± 1.2 |
| 41. <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 2.3 ± 0.2 | 2.2 ± 0.3 | 2 ± 0.3 | 2 ± 0.3 | 2 ± 0.3 | 2.1 ± 0.3 | 2.7 ± 0.4 | 2.1 ± 0.1 |

a = media b = Desviación estándar n = 9

ANEXO D. Longitud de la raíz.

Cuadro D. Longitud de la raíz de las 41 especies evaluadas

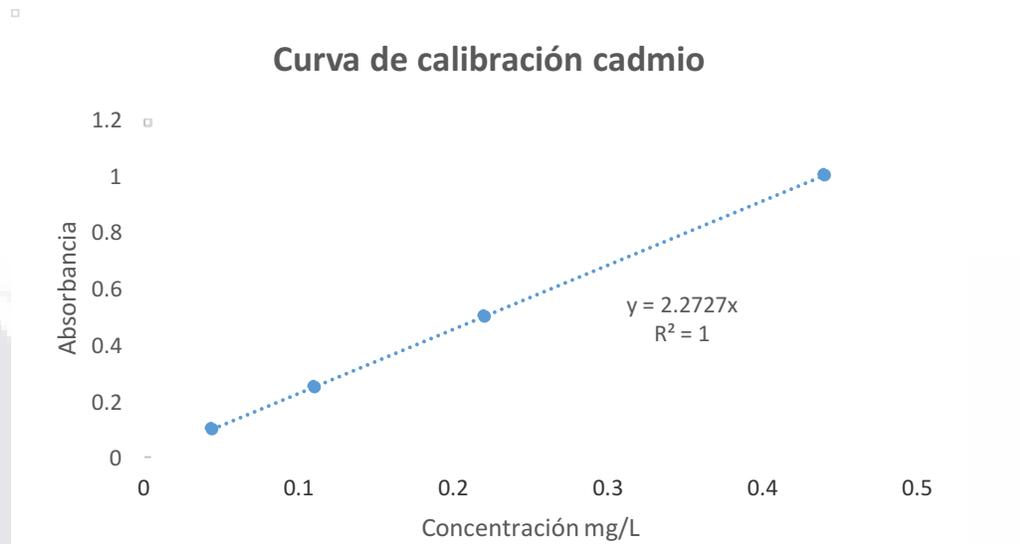
| Familia | Control | Cd | Cu | Cr | Fe | Mn | Pb | Zn |
|---|----------------|------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| Agavaceae | | | | | | | | |
| 1. <i>Agave bracteosa</i> | 12.1 ± 1.9 | 4.5 ± 1.3 | 5.1 ± 0.2 | 0 | 8 ± 0.2 | 5.1 ± 0.1 | 5.1 ± 0.2 | 6.9 ± 0.1 |
| 2. <i>Agave celsii</i> | 11.1 ± 1.1 | 8.1 ± 1.9 | 3.2 ± 0.3 | 8.3 ± 0.2 | 7.1 ± 0.2 | 6 ± 0.1 | 1.1 ± 0.2 | 10.8 ± 0.3 |
| 3. <i>Agave chiapensis</i> | 5.8 ± 0.3 | 2.8 ± 0.3 | 1 ± 0.8 | 2.6 ± 0.2 | 8 ± 0.1 | 4 ± 0.1 | 4.1 ± 0.2 | 5 ± 0.1 |
| 4. <i>Agave difformis</i> | 10.5 ± 0.5 | 7.2 ± 1 | 4.8 ± 1.5 | 0 | 7 ± 0.1 | 3 ± 0.1 | 8.9 ± 0.1 | 8.2 ± 0.8 |
| 5. <i>Agave funkiana</i> | 12.7 ± 1.2 | 11.5 ± 1.5 | 0 | 0 | 4.9 ± 0.1 | 6 ± 0.1 | 10.3 ± 0.8 | 7 ± 0.1 |
| 6. <i>Agave obscura</i> | 7.3 ± 0.6 | 6.1 ± 1 | 3.1 ± 0.1 | 1.1 ± 0.1 | 0.9 ± 0.1 | 10.6 ± 0.5 | 4.1 ± 0.6 | 5.2 ± 0.2 |
| 7. <i>Agave palmeri</i> | 11.3 ± 3.8 | 5 ± 4.3 | 3.2 ± 0.3 | 0.7 ± 1.3 | 3.3 ± 0.6 | 8.7 ± 2.9 | 3.1 ± 0.9 | 7.3 ± 0.6 |
| 8. <i>Agave peacockii</i> | 8.3 ± 0.6 | 2.8 ± 0.7 | 0.6 ± 0.5 | 0 | 0 | 2 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 | 3.1 ± 0.2 |
| 9. <i>Agave potatorum</i> | 8.3 ± 0.6 | 5.8 ± 0.7 | 4.1 ± 0.1 | 0 | 5.9 ± 0.1 | 7 ± 0.1 | 2.8 ± 0.3 | 6.8 ± 0.2 |
| 10. <i>Agave victoria-reginae</i> | 2.2 ± 0.3 | 1.8 ± 0.3 | 0 | 0 | 0.5 ± 0.1 | 2 ± 0.1 | 2.5 ± 0.7 | 2.1 ± 0.1 |
| 11. <i>Agave salmiana</i> | 4.9 ± 0.8 | 3.2 ± 0.3 | 3.3 ± 0.2 | 3.4 ± 0.2 | 0.9 ± 0.1 | 3 ± 0.1 | 0.7 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 |
| 12. <i>Agave titanota</i> | 7.5 ± 0.5 | 0 | 2.2 ± 0.3 | 0 | 3.9 ± 0.1 | 5 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 4.1 ± 0.2 |
| Asparagaceae | | | | | | | | |
| 13. <i>Yucca carnerosana</i> | 12.1 ± 0.5 | 6.4 ± 0.5 | 5.6 ± 0.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7.7 ± 0.3 |
| 14. <i>Yucca filamentosa</i> | 8.3 ± 0.3 | 0 | 6 ± 0.2 | 0 | 0 | 6.4 ± 0.1 | 3 ± 0.1 | 3.5 ± 0.4 |
| 15. <i>Yucca filifera</i> | 11.3 ± 1.3 | 3.2 ± 0.3 | 3 ± 0.1 | 0 | 3.7 ± 0.3 | 8.4 ± 0.3 | 6.4 ± 0.3 | 8.7 ± 0.3 |
| Cactaceae | | | | | | | | |
| 16. <i>Echinocereus ferreirianus var lindsayi</i> | 2.2 ± 0.3 | 2.1 ± 0.1 | 1.1 ± 0.1 | 0 | 0 | 1.2 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 0.6 ± 0.2 |
| 17. <i>Echinocereus knippelianus</i> | 2.1 ± 0.1 | 2 ± 0.2 | 1.2 ± 0.2 | 0 | 1.1 ± 0.1 | 1.6 ± 0.2 | 2 ± 0.1 | 0.6 ± 0.1 |
| 18. <i>Echinocereus (Morangaya) pensilis</i> | 2 ± 0.2 | 2.1 ± 0.3 | 2.2 ± 0.2 | 0 | 0.9 ± 0.1 | 1.6 ± 0.2 | 2.1 ± 0.1 | 2 ± 0.1 |
| 19. <i>Echinocereus spinigenmatus</i> | 0 | 0 | 0.8 ± 0.3 | 0 | 0.9 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 0 | 3.9 ± 0.1 |
| 20. <i>Echinocereus triglochidiatus</i> | 0 | 0 | 3.8 ± 0.6 | 0 | 0 | 1.1 ± 0.1 | 0 | 0 |
| 21. <i>Ferocactus peninsulae</i> | 3.9 ± 0.1 | 2.5 ± 0.5 | 0 | 2.1 ± 0.1 | 1.1 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 2 ± 0.1 |
| 22. <i>Hylocereus undatus</i> | 4.2 ± 0.3 | 2.7 ± 0.5 | 2.2 ± 0.6 | 2.3 ± 0.2 | 2.4 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 | 1.6 ± 0.2 | 3.3 ± 0.2 |
| 23. <i>Myrtillocactus cochal</i> | 2.2 ± 0.3 | 2.4 ± 0.5 | 2.2 ± 0.6 | 0 | 1 ± 0.2 | 0.5 ± 0.1 | 1 ± 0.1 | 0.6 ± 0.1 |
| 24. <i>Myrtillocactus geometrizans</i> | 1.6 ± 0.4 | 1.5 ± 0.3 | 1 ± 0.2 | 0.5 ± 0.5 | 0.4 ± 0.4 | 9.3 ± 0.3 | 0.9 ± 0.3 | 1.1 ± 0.6 |
| 25. <i>Opuntia amyclaea</i> | 7.9 ± 0.4 | 4.8 ± 0.8 | 1.2 ± 0.3 | 3.5 ± 0.4 | 0.5 ± 0.1 | 5.1 ± 0.2 | 3.1 ± 0.2 | 3.3 ± 0.2 |
| 26. <i>Opuntia basilaris</i> | 4.4 ± 0.6 | 3.5 ± 0.5 | 1.1 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 0.5 ± 0.1 | 8 ± 0.1 | 3.7 ± 0.4 | 3.9 ± 0.1 |

| | | | | | | | | |
|---------------------------------------|----------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| 27. <i>Opuntia cochenillifera</i> | 3.2 ± 0.3 | 2.3 ± 0.6 | 0.7 ± 0.3 | 3.1 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 0.6 ± 0.1 | 2.8 ± 1.1 | 1.1 ± 0.1 |
| 28. <i>Opuntia ficus - Indica</i> | 12 ± 2 | 4.6 ± 0.5 | 2.2 ± 0.3 | 0.9 ± 0.4 | 3.9 ± 0.1 | 3.3 ± 0.2 | 3.2 ± 0.2 | 3.1 ± 0.2 |
| 29. <i>Opuntia macrocentra</i> | 8.8 ± 0.8 | 3.1 ± 0.3 | 2.2 ± 0.3 | 2.1 ± 0.1 | 1.1 ± 0.1 | 1.4 ± 0.1 | 1 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 |
| 30. <i>Opuntia robusta</i> | 10.3 ± 1 | 2.3 ± 0.4 | 1.3 ± 0.3 | 0.6 ± 0.2 | 5.9 ± 0.1 | 3.1 ± 0.2 | 1.1 ± 0.2 | 4 ± 0.2 |
| 31. <i>Peniocereus greggii</i> | 3.4 ± 0.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.9 ± 1.3 | 0 | 0 |
| 32. <i>Pereskia sacharosa</i> | 9.3 ± 0.3 | 6.1 ± 1 | 0.8 ± 0.7 | 3.8 ± 0.2 | 7 ± 0.1 | 6.9 ± 0.1 | 3.1 ± 0.2 | 7.8 ± 0.2 |
| 33. <i>Pilosocereus chrysacanthus</i> | 3.2 ± 0.3 | 2.3 ± 0.4 | 1.2 ± 0.3 | 1.2 ± 0.2 | 1 ± 0.1 | 1 ± 0.1 | 1.6 ± 0.2 | 0.9 ± 0.1 |
| 34. <i>Polaskia chichipe</i> | 2.4 ± 0.4 | 1.2 ± 0.2 | 1.2 ± 0.3 | 1.1 ± 0.1 | 0.6 ± 0.2 | 1.1 ± 0.2 | 1.8 ± 0.3 | 0.9 ± 0.1 |
| 35. <i>Selenicereus validus</i> | 1.4 ± 0.4 | 0 | 0.5 ± 0.2 | 0 | 5.5 ± 0.5 | 0.7 ± 0.2 | 0.6 ± 0.1 | 5.9 ± 0.1 |
| 36. <i>Stenocereus queretaroensis</i> | 6 ± 1.7 | 2.2 ± 0.3 | 0.8 ± 0.3 | 0 | 1.1 ± 0.8 | 2.1 ± 0.1 | 2.4 ± 0.9 | 1.4 ± 0.5 |
| Familia Nolinaceae | Control | Cd | Cu | Cr | Fe | Mn | Pb | Zn |
| 37. <i>Beaucarnea goldmanii</i> | 1.5 ± 0.5 | 13.2 ± 1 | 5.2 ± 0.2 | 0 | 10.8 ± 0.8 | 11.5 ± 0.5 | 8.9 ± 0.1 | 13.3 ± 1.2 |
| 38. <i>Beaucarnea recurvata</i> | 9 ± 3.6 | 2 ± 1.9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39. <i>Dasyllirion acrotriche</i> | 20.3 ± 3.5 | 21.3 ± 1.5 | 15.2 ± 1.1 | 0 | 20.8 ± 0.8 | 0 | 10.8 ± 0.8 | 8.8 ± 0.2 |
| 40. <i>Dasyllirion glaucophyllum</i> | 14.3 ± 1.5 | 7.3 ± 0.6 | 0 | 0 | 0 | 11.9 ± 1.6 | 6 ± 0.2 | 13.3 ± 0.6 |
| 41. <i>Nolina durangensis</i> | 6.5 ± 0.5 | 3.5 ± 0.5 | 2.3 ± 0.3 | 0 | 8.1 ± 0.1 | 13.2 ± 0.8 | 7 ± 0.1 | 5.9 ± 0.1 |

a = media b = Desviación estándar n = 9

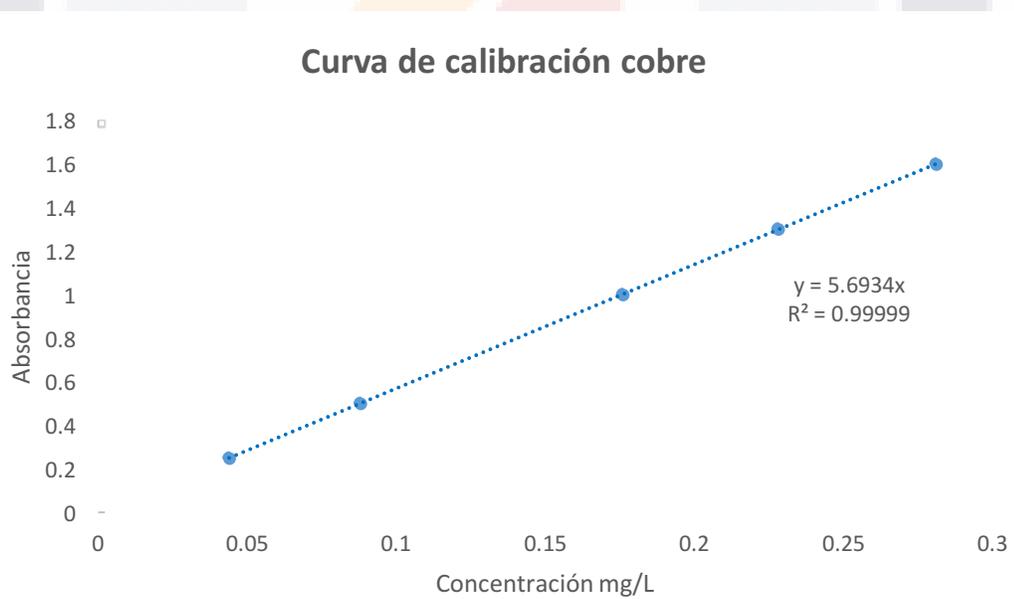
ANEXO E. Curva de calibración de los metales pesados.

Cd



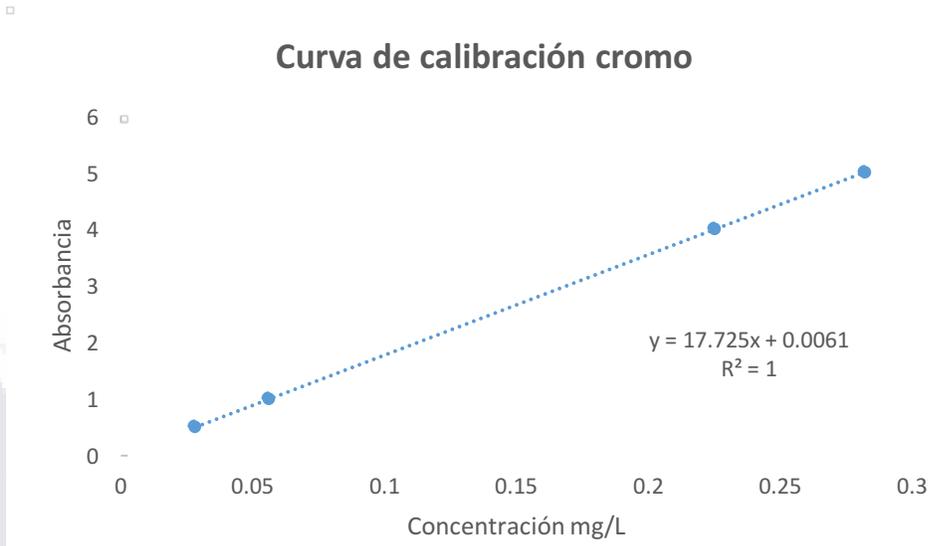
Gráfica 1E. Curva de calibración del metal Cd para la cuantificación de metales pesados

Cu



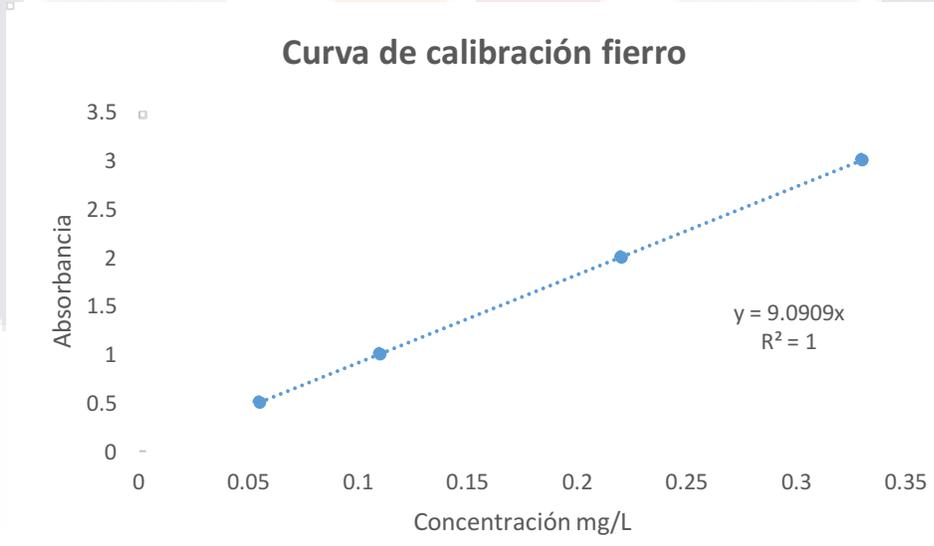
Gráfica 2E. Curva de calibración del metal Cu para la cuantificación de metales pesados

Cr



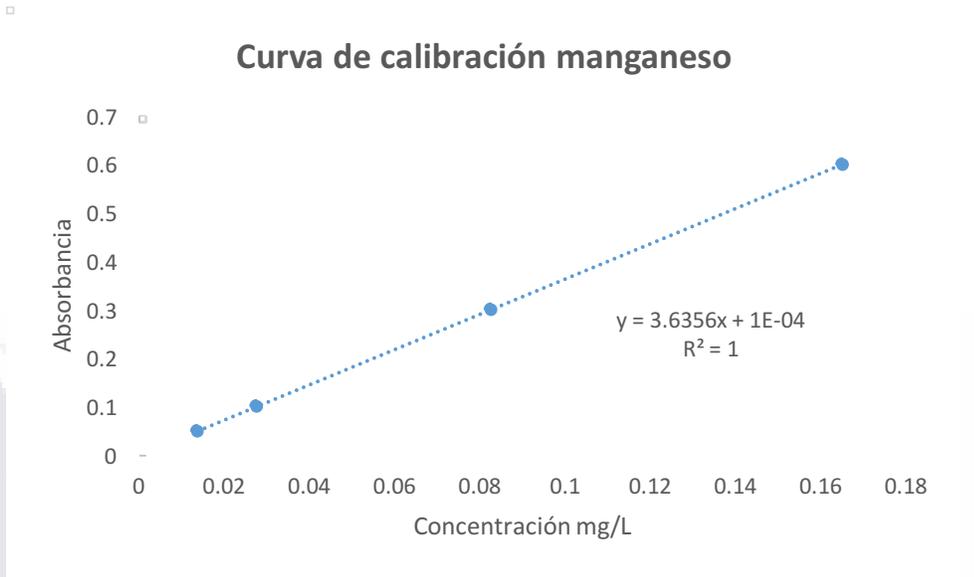
Gráfica 3E. Curva de calibración del metal Cr para la cuantificación de metales pesados

Fe



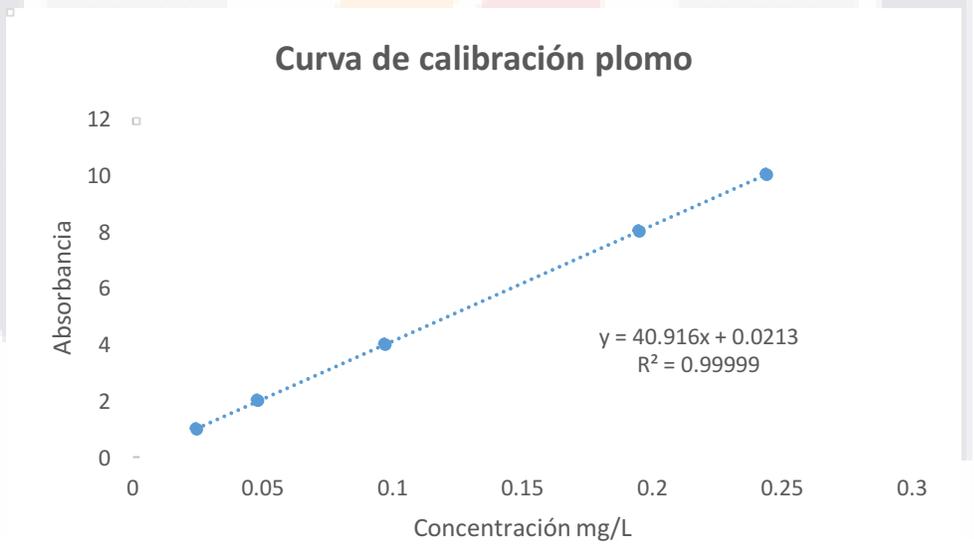
Gráfica 4E. Curva de calibración del metal Fe para la cuantificación de metales pesados

Mn



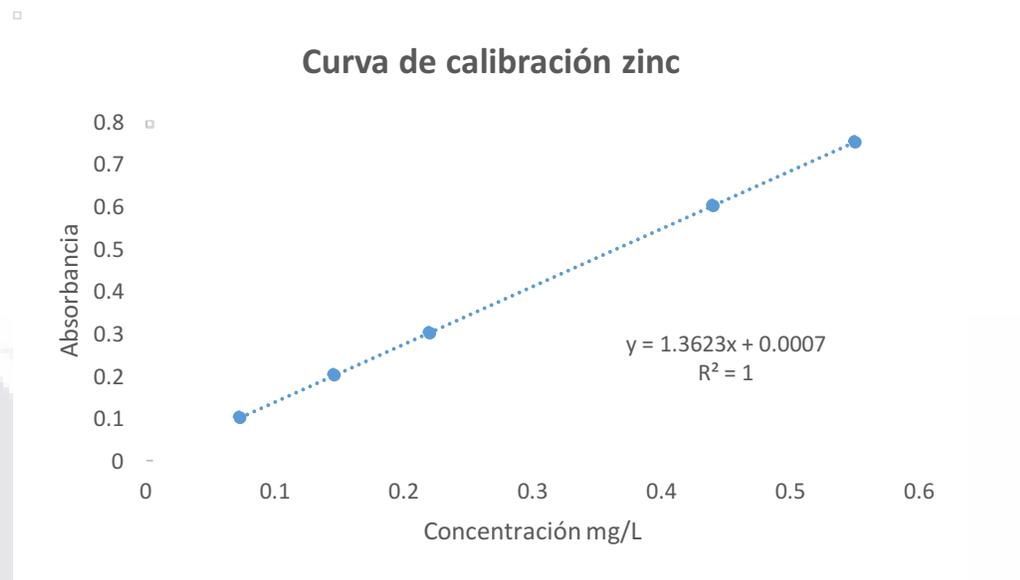
Gráfica 5E. Curva de calibración del metal Fe para la cuantificación de metales pesado

Pb



Gráfica 6E. Curva de calibración del metal Pb para la cuantificación de metales pesados

Zn



Gráfica 7E. Curva de calibración del metal Pb para la cuantificación de metales pesados

ANEXO F. Concentración de los metales pesados familia Asparagaceae

Concentración de metales pesados

| Tratamientos mg kg ⁻¹ | Cu | | Fe | | Mn | | Zn | |
|-------------------------------------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 1. <i>A. celsii</i> | 39.82 | 887.32 | 191.11 | 420.40 | 3374.29 | 3489.93 | 2186.15 | 4263.16 |
| 2. <i>A. chiapensis</i> | 18.56 | 1044.93 | 74.45 | 997.09 | 3028.57 | 1196.58 | 2059.92 | 3327.27 |
| 3. <i>A. osbcura</i> | 140.77 | 513.42 | 452.39 | 2120.77 | 2745.54 | 2455.09 | 1660.71 | 1573.77 |
| 4. <i>A. palmeri</i> | 107.64 | 2220.92 | 305.01 | 1569.64 | 1751.82 | 1194.69 | 1136.62 | 1392.31 |
| 5. <i>A. salmiana</i> | 61.61 | 750.74 | 119.72 | 468.55 | 2749.38 | 3446.41 | 1241.09 | 2824.43 |

Cu = 12 mg kg⁻¹ Fe= 55 mg kg⁻¹ Mn= 87 mg kg⁻¹ y Zn= 31 mg kg⁻¹ de concentración en el medio de cultivo.

| Tratamientos mg kg ⁻¹ | Cd | | Cr | | Pb | |
|-------------------------------------|-------|-------|--------|---------|-------|---------|
| | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 1. <i>A. celsii</i> | 27.65 | 36.96 | 416.99 | 1541.58 | 16.15 | 1129.22 |
| 2. <i>A. chiapensis</i> | 24.93 | 11.59 | 43.83 | 1942.5 | 0 | 487.34 |
| 3. <i>A. osbcura</i> | 41.39 | 46.38 | 263.01 | 1482.91 | 36.61 | 364.12 |
| 4. <i>A. palmeri</i> | 0 | 9.45 | 0 | 1145.43 | 0 | 319.74 |
| 5. <i>A. salmiana</i> | 4 | 36.52 | 659.30 | 1721.16 | 0 | 450.42 |

Cd= 0.5 mg kg⁻¹ Cr = 103 mg kg⁻¹ Pb= 82 mg kg⁻¹ de concentración en el medio de cultivo.

Se calculó el factor de bioconcentración de la raíz

| Especies | Factor de bioconcentración de la raíz | | | | | | |
|-------------------------|---------------------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|----|
| | Cu | Fe | Mn | Zn | Cd | Cr | Pb |
| 1. <i>A. celsii</i> | 73.94 | 7.64 | 40.11 | 137.52 | 73.92 | 14.97 | - |
| 2. <i>A. chiapensis</i> | 87.07 | 18.12 | - | 107.33 | - | 18.85 | - |
| 3. <i>A. osbcura</i> | 42.78 | 38.55 | - | - | 92.76 | 14.39 | - |
| 4. <i>A. palmeri</i> | 185.07 | 28.53 | - | 44.91 | - | - | - |
| 5. <i>A. salmiana</i> | 62.56 | 8.51 | 39.61 | 91.11 | 73.04 | 16.71 | - |

***ANEXO G. Concentracion de metales pesados familia Cactaceae**

Concentración de metales pesados

| Tratamientos mg kg ⁻¹ | Cu | | Fe | | Mn | | Zn | |
|-------------------------------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 1. <i>O. amyclaea</i> | 211.11 | 702.80 | 175.14 | 1185.45 | 4485.49 | 2276.78 | 1755.81 | 1858.69 |
| 2. <i>O. basilaris</i> | 171.55 | 480 | 910.80 | 93.26 | 1259.65 | 167.87 | 486.67 | 1867.32 |
| 3. <i>O. cochenillifera</i> | 198.45 | 732.60 | 216.67 | 1170.97 | 3192.51 | 1831.39 | 3446.22 | 2143.82 |
| 4. <i>O. ficus-indica</i> | 119 | 403.74 | 120.24 | 606.70 | 2210.03 | 1162.79 | 1033.07 | 2244.36 |
| 5. <i>O. macrocentra</i> | 182.70 | 377.59 | 536.64 | 743.02 | 1906.47 | 1748.47 | 3502.91 | 653.85 |
| 6. <i>O. robusta</i> | 124.41 | 348.27 | 181.91 | 1747.09 | 3578.84 | 2773.59 | 1716.69 | 1736.84 |
| 7. <i>P. sacharosa</i> | 31.06 | 294.42 | 404.09 | 429.313 | 1978.57 | 1464.68 | 4206.13 | 1566.34 |
| 8. <i>P. chrysacanthus</i> | 217 | 625.42 | 1147.47 | 90.91 | 180 | 2295.36 | 1565.49 | 653.85 |
| 9. <i>P. chichipe</i> | 108.51 | 395.90 | 1148 | 965.88 | 916.94 | 1090.24 | 489.99 | 252.41 |

Cu = 12 mg kg⁻¹ Fe= 55 mg kg⁻¹ Mn= 87 mg kg⁻¹ y Zn= 31 mg kg⁻¹ de concentración en el medio de cultivo.

| Tratamientos mg kg ⁻¹ | Cd | | Cr | | Pb | |
|-------------------------------------|-------|--------|--------|---------|--------|---------|
| | Brote | Raíz | Brote | Raíz | Brote | Raíz |
| 1. <i>O. amyclaea</i> | 13.64 | 103.73 | 564.55 | 1650.91 | 20.04 | 1359.54 |
| 2. <i>O. basilaris</i> | 1.29 | 63.46 | 531.89 | 1911.83 | 0 | 254.49 |
| 3. <i>O. cochenillifera</i> | 0 | 18.18 | 207.5 | 1244.48 | 146.34 | 1611.87 |
| 4. <i>O. ficus-indica</i> | 0 | 222.11 | 0 | 1491.71 | 439.72 | 1027.97 |
| 5. <i>O. macrocentra</i> | 13.76 | 204.42 | 188.20 | 597.07 | 41.23 | 583.03 |
| 6. <i>O. robusta</i> | 0 | 87.42 | 44.34 | 823.40 | 381.36 | 1694.21 |
| 7. <i>P. sacharosa</i> | 27.15 | 46.17 | 163.61 | 350.20 | 128.23 | 1798.21 |
| 8. <i>P. chrysacanthus</i> | 13.18 | 12.59 | 296.43 | 2304.98 | 121.50 | 539.79 |
| 9. <i>P. chichipe</i> | 1.32 | 2.77 | 511.51 | 751.91 | 23.65 | 921.98 |

Cd= 0.5 mg kg⁻¹ Cr = 103 mg kg⁻¹ Pb= 82 mg kg⁻¹ de concentración en el medio de cultivo.

Se calculó el factor de bioconcentración de la raíz

| Especies | Factor de bioconcentración de la raíz | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | Cu | Fe | Mn | Zn | Cd | Cr | Pb |
| 1. <i>O. amyclaea</i> | 58.56 | 21.55 | - | 56.63 | 207.46 | 16.02 | - |
| 2. <i>O. basilaris</i> | 40 | - | - | 60.23 | 126.92 | 18.56 | - |
| 3. <i>O. cochenillifera</i> | 61.05 | 21.29 | - | - | - | 12.08 | 19.65 |
| 4. <i>O. ficus-indica</i> | 33.64 | 11.03 | - | 72.39 | - | - | 12.53 |
| 5. <i>O. macrocentra</i> | 31.46 | 13.50 | - | - | 408.84 | 5.79 | - |
| 6. <i>O. robusta</i> | 29.02 | 31.76 | - | 56.02 | - | - | 20.66 |
| 7. <i>P. sacharosa</i> | 24.53 | 7.80 | - | - | 92.34 | 3.4 | 21.92 |
| 8. <i>P. chrysacanthus</i> | 52.11 | - | 26.38 | - | - | 22.37 | 6.58 |
| 9. <i>P. chichipe</i> | 32.99 | - | 12.53 | - | 5.54 | 7.3 | - |

ANEXO H. Especies testigos imagenes.



Agave celsii



Agave chiapensis



Agave obscura



Agave palmeri



Agave salmiana



Opuntia amyclaea



Opuntia basilaris



Opuntia cochenillifera



Opuntia ficus-indica



Opuntia macrocentra



Opuntia robusta



Pereskia sacharosa



Pilosocereus chrysacanthus



Polaskia chichipe

***ANEXO H. Carta aceptación Artículo.**

12/11/2019

#2081 Review



Nova Scientia

Revista de Investigación de la Universidad De La Salle Bajío

ISSN 2007 - 0705

HOME
ABOUT
USER HOME
SEARCH
CURRENT
ARCHIVES
ANNOUNCEMENTS
ETHICS STATEMENT
DELASALLE BAJIO

UNIVERSITY

Home > User > Author > Submissions > #2081 > **Review**

#2081 Review

SUMMARY
REVIEW
EDITING

Submission

| | |
|---------|--|
| Authors | Lucila Perales Aguilar, Ma. del Socorro Santos Díaz, Yenny Adriana Gómez Aguirre, Magdalena Samantha Ramos Gómez, Eugenio Perez Molphe Balch |
| Title | Análisis in vitro de la acumulación de metales pesados en plantas de la familia Asparagaceae tolerantes a la baja disponibilidad de agua |
| Section | Natural Sciences and Engineering |
| Editor | Revista Científica Electrónica |

Peer Review

Round 1

| | | |
|----------------|--------------------------------|------------|
| Review Version | 2081-8211-1-RV.DOCX | 2019-07-15 |
| Initiated | 2019-08-12 | |
| Last modified | 2019-09-17 | |
| Uploaded file | Reviewer A 2081-8481-1-RV.PDF | 2019-09-08 |
| | Reviewer A 2081-8481-2-RV.DOCX | 2019-09-08 |
| Editor Version | 2081-8616-1-ED.DOCX | 2019-10-07 |
| Author Version | 2081-8599-1-ED.DOCX | 2019-10-03 |

Round 2

| | | |
|----------------|---------------------|------------|
| Review Version | 2081-8211-3-RV.DOCX | 2019-10-09 |
| Initiated | 2019-10-07 | |
| Last modified | 2019-11-05 | |
| Uploaded file | None | |

Editor Decision

| | | |
|-----------------------|--|------------|
| Decision | Accept Submission | 2019-11-11 |
| Notify Editor | Editor/Author Email Record | 2019-10-02 |
| Editor Version | 2081-8616-3-ED.DOCX | 2019-10-09 |
| | 2081-8616-4-ED.DOCX | 2019-10-09 |
| Author Version | None | |
| Upload Author Version | <input type="button" value="Seleccionar archivo"/> <input type="button" value="No se eligió archivo"/> <input type="button" value="Upload"/> | |

Scope

Nova Scientia is a multidisciplinary, electronic publication that publishes biannually in the months of May and November; it is published by the *Universidad De La Salle Bajío* and aims to distribute unpublished and original papers from the different scientific disciplines written by national and international researchers and academics. It does not publish reviews, bibliographical revisions, or professional applications.

Nova Scientia, year 11, issue 22, May – October 2019, is a biannual journal printed by the Universidad De La Salle Bajío, with its address: Av. Universidad 602, Col. Lomas del Campestre, C. P. 37150, León, Gto. México. Phone: (52) 477 214 3900, <http://novascientia.delasalle.edu.mx/>. Chief editor: Ph.D. Ramiro Rico Martínez. ISSN 2007 - 0705. Copyright for exclusive use No. 04-2008-092518225500/102, Diffusion rights via computer net 04 - 2008 - 121011584800-203 both granted by the Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Editor responsible for updating this issue: Direction of Research Department of the Universidad De La Salle Bajío, last updated on May 28th, 2019.

Journal Help

USER

You are logged in as...

perezmolphe

- My Profile
- Log Out

AUTHOR

Submissions

- Active (1)
- Archive (1)
- New Submission

LANGUAGE

Select Language

English

JOURNAL CONTENT

Search

Search Scope

All

Browse

- By Issue
- By Author
- By Title

FONT SIZE