



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CADMIO EN PLÁNTULAS DE PAPAYA MARADOL *Carica papaya* L.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA:

ANA MARÍA FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

**DRA. MARÍA DEL REFUGIO
CASTAÑEDA CHÁVEZ**

CODIRECTOR DE TESIS:

M.I. ISABEL ARACELI AMARO ESPEJO

ASESOR DE TESIS:

DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO

JUNIO, 2020

BOCA DEL RÍO, VERACRUZ



EDUCACION

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Boca del Río

Subdirección Académica
División de Estudios de Posgrado e Investigación

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Boca del Río, Ver **09/JUNIO/2020**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

ANA MARÍA FERNÁNDEZ MARTÍNEZ
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE

De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO, desarrollada por usted cuyo título es:

"EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CADMIO EN PLÁNTULAS DE
PAPAYA MARADOL Carica papaya"

Esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede **AUTORIZACIÓN** para que proceda a su impresión.

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos

M.C. ANA LETICIA PLATAS PINOS
JEFA DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



c.c.p. Coordinación del Programa MCIAMB
c.c.p. Expediente



Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290
Tel. (229) 690 5010 correo: dir01_bdelrio@tecnm.mx
www.tecnm.mx | www.bdelrio.tecnm.mx





"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: A-0707-130818

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 12:00 horas del día 11 del mes de mayo de 2020 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

"EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CADMIO EN PLÁNTULAS DE PAPAYA MARADOL *Carica papaya*"

Que presenta el (la) alumno(a):

ANA MARÍA FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Aspirante al Grado de:

Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental

Después de escuchar las opiniones sobre el documento escrito e intercambiar puntos de vista, los miembros de la Comisión manifestaron SU APROBACIÓN, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para su defensa ante el jurado correspondiente.

LA COMISIÓN REVISORA:

Dra. María del Refugio Castañeda Chávez
Director

M.I. Isabel Araceli Amaro Espejo
Co-Director

Dra. Fabiola Lango Reynoso
Asesor

Dra. Gabycarmen Navarrete Rodríguez
Asesor



RESUMEN

La concentración de metales pesados en plantas, en especial el Cadmio (Cd) modifica los procesos metabólicos en las plantas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto fisiológico, el factor de traslocación y bioconcentración en plántulas de papaya maradol *Carica papaya* a partir de la adición de Cd en tres concentraciones diferentes. Se estableció un diseño experimental completamente al azar con 3 réplicas, cada unidad contienen 8 plantas de papaya y las cuatro concentraciones de Cd (0, 50, 100 y 150 mg L⁻¹) adicionada en el agua de riego, una vez a la semana. El experimento tuvo una duración de 75 días. El análisis de comparación de los cuatro tratamientos mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y las repeticiones. Las concentraciones de Cd en las hojas oscilaron entre los valores mínimos de 0.26 mg K⁻¹ y 0.32 mg K⁻¹ y los valores máximos observados fueron de 0.55 mg K⁻¹ y 0.65 mg K⁻¹. Las concentraciones de Cd en los tallos fluctuaron de los valores mínimos de 0.93 mg K⁻¹ y 109 mg K⁻¹ y los valores máximos registrados fueron de 0.235 mg K⁻¹ y 0.491 mg K⁻¹. Las concentraciones de Cd en las raíces variaron de los valores mínimos de 0.027 mg K⁻¹ y 0.036 mg K⁻¹ y los valores máximos obtenidos fueron de 0.778 mg K⁻¹ y 0.814 mg K⁻¹. Los valores obtenidos en el factor de traslocación en todos los tratamientos y órganos estudiados rebasan el límite máximo permisible de concentración de Cd en pulpa de papaya, de acuerdo al CODEX INTERNACIONAL. Suelos contaminados con Cd mostraron efectos negativos en el desarrollo en la planta de papaya, durante su etapa vegetativa. A mayor concentración de Cd en suelo, aumenta la capacidad de absorción en la rizósfera de la planta. El aumento de la concentración de Cd en el suelo, influye en el factor de traslocación en los órganos de la planta de papaya.

ABSTRACT

The concentration of heavy metals in plants, especially Cadmium (Cd) modifies the metabolic processes in plants. The objective of this research was to evaluate the physiological effect, the translocation and bioconcentration factor in papaya maradol seedlings *Carica papaya* from the addition of Cd in three different concentrations. A completely random experimental design was established with 3 replicas, each unit containing 8 papaya plants and the four concentrations of Cd (0, 50, 100 & 150 mg L⁻¹) added in irrigation water, once a week. The experiment lasted 75 days. Comparison analysis of the four treatments showed statistically significant differences between treatments and repetitions. Cd concentrations in the leaves ranged from the minimum values 0.26 mg K⁻¹ y 0.32 mg K⁻¹ and the maximum values observed were 0.55 mg K⁻¹ & 0.65 mg K⁻¹. Cd concentrations on stems fluctuated from minimum values 0.93 mg K⁻¹ & 109 mg K⁻¹ and the maximum values recorded were 0.235 mg K⁻¹ & 0.491 mg K⁻¹. Cd concentrations in the roots varied from the minimum values of 0.027 mg K⁻¹ & 0.036 mg K⁻¹ and the maximum values obtained were 0.778 mg K⁻¹ & 0.814 mg K⁻¹. The values obtained in the translocation factor in all treatments and organs studied exceed the permissible maximum limit of Cd concentration in papaya pulp, according to CODEX INTERNATIONAL. Soils contaminated with Cd showed negative effects on development at papaya plant, during its vegetative stage. The higher the concentration of Cd in soil, increases absorption capacity in the plant's rhizosphere. The increased concentration of Cd in the soil influences the translocation factor in the organs of the papaya plant.

Dedicatorias

*A mis padres por su apoyo incondicional, por creer en mí e impulsarme en ser una
persona de bien.*

A mi abuelita.

*A Yazia por su apoyo, por brindarme su tiempo y por todos los proyectos
emprendidos durante este tiempo.*

A Jenni, Woody & Mike, fieles compañeros de vida.

Agradecimientos

A la M.I. Isabel Aracel Amaro Espejo por la oportunidad de participar en su investigación, por la confianza y apoyo.

A la Dra. Fabiola Lango Reynoso, por brindarnos inspiración, oportunidades en este camino y contribuir en mi formación profesional.

A todos los profesores del posgrado por sus lecciones y herramientas brindadas.

A Lupita, Tania, por todas las horas de trabajo compartidas y por su amistad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Al Instituto Tecnológico de Boca del Río.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	20
2. MARCO TEÓRICO.....	22
2.1 Metales pesados.....	22
2.2 Dinámica de los metales pesados en el suelo.....	23
2.3 Factores del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio	26
2.4 Transporte de los metales pesados en las plantas	29
2.5 Efectos fisiológicos	30
3. JUSTIFICACIÓN	38
4. HIPÓTESIS	39
5. OBJETIVOS	39
5.1 Objetivo General.....	39
5.2 Objetivos Específicos	39
6. MATERIALES Y MÉTODOS	40
6.1 Germinación y crecimiento de plantas.....	40
6.2 Adición del metal	40
6.3 Diseño experimental	40
6.4 Medición de variables	41
6.5 Factor de traslocación (TF).....	43
7. RESULTADOS	45
7.1 Viabilidad de las semillas.....	45
7.2 Efectos fisiológicos	45
7.3 Concentración de Cd	49
7.4 Factor de bioconcentración (BCF).....	53
7.5 Factor de traslocación (TF).....	53

8. DISCUSIÓN.....	55
9. CONCLUSIONES.....	58
LITERATURA CITADA.....	59
ANEXOS	62

Índice de cuadros

Cuadro 1. Efectos del cadmio sobre las plantas de acuerdo a varios autores.	32
Cuadro 2. Fuentes de contaminación de alimentos por metales pesados.....	34
Cuadro 3. Concentraciones obtenidas, medias y desviación estándar en los órganos de la planta de Carica papaya.	50

Índice de figuras

Figura 1. Dinámica del cadmio en el medio (McLaughlin y Singh, 1999).	25
Figura 2.Prueba de viabilidad por tetrazolio. a) Semillas cortadas y sumergidas en el reactivo de tetrazolio, b) Semillas después de incubación, c) Semilla coloreada indica que es viable, d) Semilla no coloreada indica que no es viable.	45
Figura 3. Valores de grosor de tallo de las plántulas de Carica papaya, bajo diferentes concentraciones de Cd, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento control y el tratamiento de 150 mg L ⁻¹	46
Figura 4.Valores de clorofila indirecta de las plántulas de Carica papaya, bajo diferentes concentraciones de Cd, mostrando diferencias estadísticamente significativas en todos los tratamientos.....	47
Figura 5.Valores de conteo de hojas de las plántulas de Carica papaya, bajo distintas concentraciones de Cd, evidenciando diferencias estadísticamente significativas en sus rangos.	48
Figura 6.Valores de altura de las plántulas de Carica papaya, bajo distintas concentraciones de Cd, El rango promedio no mostró diferencias estadísticamente significativas.....	49

Figura 7. ANOVA unidireccional para concentraciones de Cd en tratamientos. Análisis Tukey, letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas. La mayor concentración de Cd se observó de: RAÍZ > TALLO > HOJAS.	51
Figura 8. Factor de bioconcentración en los diferentes órganos de la planta Carica papaya.	53
Figura 9. Factor de traslocación en los diferentes órganos de la planta Carica papaya.	54

Índice de anexos

Anexo 1.. Establecimiento de las plantas de acuerdo a los diferentes tratamientos aplicados.	62
Anexo 2. Trasplante de plántulas de Carica papaya.....	63
Anexo 3. Etiquetado y adición de metal.	64
Anexo 4. Uso del software Image J como herramienta de medición de área foliar.	65
Anexo 5. Determinación de Cd mediante espectrofotetría de absorción atómica.	65

1. INTRODUCCIÓN

El cadmio (Cd) es considerado uno de los metales pesados más contaminantes del ambiente, ya que se disuelve fácilmente en agua y se vuelve más disponible para los organismos; en general el Cd^{+2} , no tiene función biológica esencial, es decir, no puede metabolizarse biológica o químicamente, por lo que tiende a bioacumularse a niveles tóxicos para los seres vivos (Sauve *et al.*, 2000).

A pesar de que los metales pesados se encuentran en el suelo en forma natural a través de la meteorización de las rocas, se ha observado que el incremento de éstos en el suelo, y se debe principalmente a la influencia de diversas fuentes antropogénicas como la minería, la fundición, la industria microelectrónica y los productos agrícolas, los cuales han aumentado significativamente el contenido de Cd en el ambiente (Gramlich *et al.* 2017; Hu y Cheng, 2013).

En suelos agrícolas, se ha demostrado que las aplicaciones de fertilizantes fosfatados y nitrogenados, plaguicidas, enmiendas orgánicas y excremento son las principales fuentes de ingreso de Cd a los suelos de cultivo (Cheng, 2018); de ésta manera, los metales se encuentran disponibles para ser absorbidos por las plantas hasta sus partes comestibles. Sin embargo, la disponibilidad de metales en el suelo está en función de varios factores como son el pH, el contenido de arcillas, el porcentaje de materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico (Alloway, 1995).

El ingreso del Cd en plantas, sucede cuando éstas, absorben los nutrientes esenciales y benéficos para su desarrollo, pero debido a que su selectividad es imperfecta, puede acumular elementos no esenciales y altamente tóxicos del suelo, como es el caso de los metales pesados (Järup y Åkesson, 2009).

La concentración de Cd en los tejidos vegetales puede en algunos casos, alcanzar niveles superiores a la presente en el suelo, causando efectos fitotóxicos; se ha reportado que el Cd causa un crecimiento débil, reducción de absorción de nutrientes (Mn, K y Zn), trastornos en el metabolismo de la planta, reducción e inhibición de los procesos fotosintéticos; causando clorosis y deformación de las hojas y acumulación en la estructura de la planta y partes comestibles (Ferguson, 2000; Gouia *et al.*, 2000; Benavides *et al.*, 2005; Järup y Åkesson, 2009; Clemens y Ma, 2016).

Cuando el Cd ingresa a la cadena trófica, trae repercusiones sobre la salud pública, causando inhibición en la absorción de elementos esenciales como el Fe, Cu, Zn y Ca, por lo que, el Cd se acumula en riñón (especialmente la corteza renal), hígado, pulmón, hueso y placenta. Se estima que entre un 10-50% de Cd se absorbe en pulmón, mientras que a nivel gastrointestinal la absorción es del 8% (Ferguson, 2000). Es por esto que el Cd está relacionado con problemas de cardiomiopatía, daño renal, hepático, problema cancerígeno.

La presente investigación tiene por objetivo evaluar el efecto fisiológico de plántulas de *Carica papaya L.* por la adición de Cd, que permitirá identificar el factor de traslocación del metal a las estructura de las planta y los posibles efectos en el crecimiento del a plantas, así como identificar si es posible acumulación hacia la fruta del papayo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Metales pesados

Los metales pesados son elementos con peso atómico superior a 63 y poseen una densidad superior a $5\text{-}6\text{ g dm}^{-3}$. Los metales pesados se encuentran generalmente como componentes naturales de la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos (Gramlich *et al.*, 2002). Estos, no pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica en el ambiente, ya que los seres vivos no son capaces de metabolizarlos (Abollino *et al.*, 2002).

La Comisión Europea (1986), hace mención de los elementos que causan daño a la vida de plantas o animales, ya que pueden ser tóxicos cuando las concentraciones superan ciertos umbrales en los suelos o en las plantas; entre los metales pesados contaminantes más comunes se encuentran cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), Pb (plomo) y Zinc (Zn) (USEPA, 1997).

Entre los metales pesados, el Cd es elemento más estudiado por su alta toxicidad; se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre en una concentración media de 0.1 mg/kg (Osorio *et al.*, 1997). La abundancia de Cd en rocas sedimentarias e ígneas no excede de 0.3 mg/Kg^{-1} y las concentraciones son parecidas en depósitos arcillosos y en rocas metamórficas (Bautista, 1999). El Cd es un constituyente muy usual en casi todos los compuestos de Zn, que pueden llegar a contener de 0.1-0.3%. También pueden encontrarse en minerales de Pb y Cu, en este caso las concentraciones de Cd son considerablemente bajas. Entre los depósitos de Zn más asociados al Cd es la esfalerita o blenda de Zn (ZnS). Algunos minerales de baja importancia económica que contienen Cd son el sulfuro de cadmio o greenockita (CdS), el óxido de cadmio (CdO) y el carbonato de cadmio u otavita (CdCO_3) (Badillo, 1985).

2.2 Dinámica de los metales pesados en el suelo.

Los metales pesados presentes en el suelo no se comportan como elementos inalterables, sino que siguen ciertas pautas de movilidad generales, las cuales pueden resumirse en cuatro vías: movilización a las aguas superficiales por escorrentías o al subsuelo; transferencia a la atmósfera por volatilización, absorción por las plantas e incorporación a las cadenas tróficas y la retención de estos en el suelo ya sea disueltos o fijados, retenidos por adsorción y precipitación (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

La principal causa del elevado nivel de toxicidad a nivel químico es que los metales pesados poseen una gran capacidad para unirse con moléculas orgánicas. Estos efectos tóxicos en sistemas biológicos dependen de reacciones con ligandos que son esenciales para su asimilación, y estos están, al mismo tiempo presentes en gran abundancia en la célula. Generalmente los metales pesados muestran gran afinidad por grupos sulfhidrilo, radicales amino, fosfato, carboxilo e hidroxilo (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

Los metales de fuentes antropogénicas son potencialmente más móviles que los de origen geológico (Kabata-Pendias, 1993). En suelos tratados con sales de elementos traza, con el fin de simular el efecto de los metales contenidos en residuos, se sobrestima la biodisponibilidad de los mismos. Ésta mayor biodisponibilidad de los metales aplicados en forma de sales ha sido demostrada tanto en ensayos en sistemas controlados en invernadero, como en condiciones a campo abierto en suelos enmendados con biosólidos (Korcak *et al.*, 1985). Brown *et al.*, (1998) mostraron que el contenido de Cd en lechuga resultó tres veces mayor en suelo tratados como abonos fosfatados que en suelos con biosólidos.

Se ha reportado la presencia de Pb, Cd y Cu en diversas muestras de frutas y verduras, asociados a fuentes puntuales de contaminación antropogénica específicamente las actividades metalúrgicas (Bravo *et al.*, 2004). Así también, se ha determinado que otra fuente importante de contaminación por Cd en hortalizas

es el uso de fertilizantes fosfatados y el uso de fangos procedentes de aguas residuales los cuales son usados en la agricultura (Alloway *et al.*, 1999).

2.2.1 Dinámica del cadmio en el suelo

Las características del suelo como el pH, potencial redox, contenido y tipo de arcillas, materia orgánica, presencia de óxidos de Fe, Mn y Al, así en los procesos de intercambio iónico, adsorción-desorción, precipitación, disolución y formación de complejos; afectan la biodisponibilidad de los diferentes metales pesados (Basta *et al.*, 2005; Silviera, 2003). Cuando los metales se encuentran en solución o adsorbidos en los sitios activos de intercambio de los constituyentes inorgánicos y orgánicos del suelo, están realmente disponibles para que las plantas los extraigan (Figura 1) (Silviera, 2003).

Se ha encontrado que en el suelo la actividad de los iones del metal es un indicador de la disponibilidad del metal, que refleja la fracción del metal que estaría más disponible para ser absorbida por las plantas, la biota del suelo o perder por lixiviación a las aguas subterráneas. Por ende, la fracción disponible es un indicador que aporta información de mayor interés con respecto a los riesgos de la presencia de cadmio en el suelo (McBride *et al.*, 1997).

Las reacciones más frecuentes del cadmio en el suelo son las siguientes (Seshadri, 2015):

- a) Precipitación: $\text{Cd}^{2+}_{(ac)} + \text{CO}_3^{2-}_{(ac)} \rightleftharpoons \text{CdCO}_{3(s)}$
- b) Disolución: $\text{CdCO}_{3(s)} + 2\text{H}_3\text{O}^+ \rightleftharpoons \text{Cd}^{2+}_{(Ac)} + 3\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_{2(g)}$
- c) Acomplejamiento: $\text{Cd}^{2+}_{(ac)} + \text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{CdSO}_4$
- d) Óxido reducción: $\text{CdS} + 2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Cd}^{2+} + \text{SO}_4^{2-}$

La absorción de Cd por un cultivo, no solo depende de la actividad del ión metálico en la solución del suelo, sino también de las relaciones que existan entre los iones en la solución y los iones en la fase sólida. Se ha señalado que la transferencia de un elemento entre el suelo y la planta no siempre transita por la fase de solución

(Kabata-Pendías y Pendias, 2001), dado que el metal podría estar disponible para la planta desde la fase sólida del suelo, mediante el proceso de difusión.

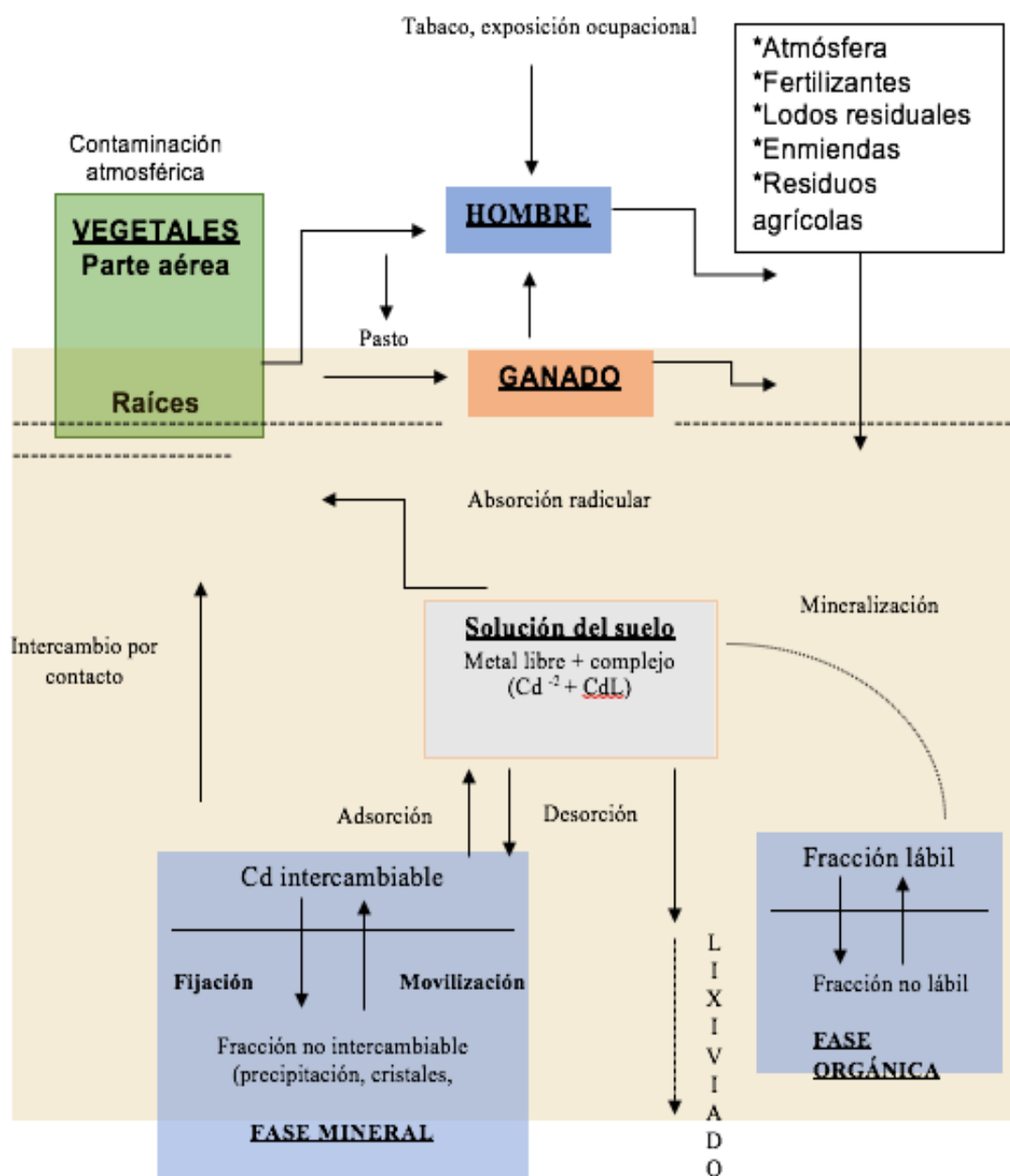
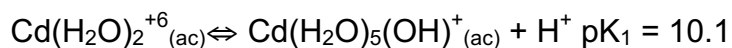


Figura 1. Dinámica del cadmio en el medio (McLaughlin y Singh, 1999).

2.3 Factores del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio

2.3.1 pH del suelo

La acidez del suelo tiene dos efectos sobre la disponibilidad del Cd en el suelo; uno es el cambio del tipo del metal que predomina bajo estas condiciones de pH y el otro, está relacionado con la competencia de los iones hidronio por los sitios activos del suelo. En diferentes investigaciones han concluido que a valores de pH alcalinos la capacidad de adsorción del metal decae debido a que las concentraciones de iones hidronio (H_3O^+) aumentan y compiten con los iones metálicos por los sitios activos del suelo (Navarro *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2006). De esta manera el protón reduciría la disponibilidad de sitios de enlace del suelo con el metal, teniendo un papel de protección o inhibición, dependiendo si el metal es nutriente o es tóxico. Además, aumenta la fracción de Cd soluble (Cd^{2+}) por disolución de los carbonatos y sulfatos, que aumentan su solubilidad a valores bajos de pH. También, bajo estas condiciones de pH, el metal tiende a formar complejos con los ligandos orgánicos e inorgánicos del suelo que tienden a disociarse, favoreciendo la formación de complejos de cadmio (Campbell y Tessier, 1987). En solución, el Cd^{2+} , al igual que el Zn^{2+} , se hidrata para formar un ion hidratado que al disociarse libera un protón, comportándose como un ácido de Lewis (McLaughlin *et al.*, 1997).



El valor de $\text{p}K_1$ indica que en aquellas soluciones del suelo con pH entre 4 y 8, la concentración del complejo $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})^+{}_{(\text{ac})}$ es de 100 a un millón de veces menor que la del ion libre, el cual puede formar iones complejos al asociarse a otros ligandos como por ejemplo el amonio del fosfato dinámico presente en los gránulos de los fertilizantes fosfatados (EPA-U.S., 1999).

Por otra parte, al aumentar el pH del suelo disminuye la carga positiva en la superficie de adsorción lo que ocasiona una disminución de la repulsión electrostática entre el ion metálico y la superficie del suelo, favoreciendo la

adsorción. Bajo estas condiciones se producen compuestos de cadmio en forma de precipitados insolubles y altamente estables (EPA-U.S., 1999).

2.3.2 Textura del suelo

Las proporciones de arena, limos y arcilla determinan la textura del suelo y gracias a ella le confieren algunas características a los suelos. La superficie de las partículas del suelo aumenta con la disminución del tamaño de las mismas, por lo que las arcillas, en conjunto con la materia orgánica, aumentan la capacidad de los suelos para retener cationes en los sitios de cambios. La vermiculita y la esmectita presentan la mayor superficie entre 600-800 m² por gramo. La illita presenta superficies entre 50-100 m² por gramo (Fassbender, 1975). Los suelos arenosos se destacan por la presencia de macroporos y son suelos generalmente permeables al agua, aire y raíces, aunque llegan a tener ciertas limitaciones. Entre ellas, está la poca capacidad de retención de agua y nutrientes aprovechable para las plantas, por lo cual deben recibir aplicaciones frecuentes de agua y nutrientes para que lleguen a ser altamente productivos. En estos suelos la retención de metales pesados es baja. Los suelos arcillosos tienen una mayor capacidad de retención de agua y nutrientes en forma disponible para los cultivos. En estos suelos, la retención de metales pesados es mayor que en los suelos de textura arenosa (González, 2011).

2.3.3 Capacidad de intercambio catiónico

El proceso de intercambio catiónico es reversible, en el cual las partículas sólidas del suelo adsorben iones de la fase acuosa y simultáneamente liberan cantidades equivalentes de otros cationes y establecen un equilibrio en ambas fases. Durante este proceso intervienen básicamente: la materia orgánica, los oxihidróxidos y los minerales arcillosos que funcionan como cambiadores y los cationes disueltos en la solución del suelo que funcionan como componentes cambiables (Rivero, 2015).

La suma de cationes intercambiables en el suelo dependerá del tipo y cantidad del mineral presente en el mismo, de la superficie específica, de las cargas del complejo

coloidal y de las características de los iones presentes en la solución del suelo. Los cambios de pH producto de la aplicación de fertilizantes y la consecuente modificación en la fracción Cd-disponible, dependerá en parte de la dosis y la frecuencia de aplicación del fertilizante (Rivero, 2015):

2.3.4 Macronutrientes

La adición de nitrógeno y fósforo a los suelos en distintas cantidades y formas químicas, afecta la absorción de cadmio por las plantas debido a que se producen cambios en el pH y en la capacidad de intercambio catiónico de los suelos (Li *et al.*, 2011). Los cambios de pH producto de la aplicación de los fertilizantes y la consecuente modificación en la fracción Cd-disponible, dependerá en parte de la dosis y la frecuencia de aplicación del fertilizante.

En lo que se refiere a la aplicación de fertilizantes fosfatados, la materia primera es la roca fosfórica, constituida principalmente por apatita, que además de fósforo contiene cadmio, en cantidades variables. La adsorción de fósforo en suelos en donde predominan cargas positivas en el complejo de cambio, aumenta la carga negativa del suelo y promueve la adsorción de cationes metálicos (Guilherme y Anderson, 1998), mientras que en suelos con predominio de cargas negativas, el efecto sobre la adsorción de cationes es menor (Lima *et al.*, 2000).

Krishnamurti *et al.*, (1999) señalan que la adsorción de Cd en suelos con pH de 6.1 y 7.8 y contenidos de materia orgánica (3.9% y 3%) medio y bajo respectivamente; disminuyó al incrementar la dosis de fósforo añadido bajo la forma de fosfato diamónico $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Esta disminución la atribuyen a la formación de iones complejos de cadmio con el fósforo, tales como el $\text{CdH}_2\text{PO}_4^+$.

2.3.5 Micronutrientes

Investigaciones diversas muestran la competencia entre micronutrientes como el Cu, Zn con el Cd por los sitios de adsorción del suelo. Como se indicó previamente, la presencia de Zn en el suelo controla la biodisponibilidad de Cd para las plantas (Tiller, 1989). También refiere que la deficiencia de Zn induce la liberación de agentes quelantes hacia la rizósfera, con el objeto de atrapar iones de Zn, lo que hace que, indirectamente aumente la disponibilidad de cadmio.

2.4 Transporte de los metales pesados en las plantas

2.4.1 Entrada, transporte y acumulación de cadmio en las plantas

Es de importancia resaltar el tipo de cultivo del que se trate, ya que no todas las plantas acumulan Cd en igual medida. Es importante la actividad e la raíz en la entrada de cadmio en la planta, siendo ésta dependiente del flujo de protones, extrusión de compuestos reductores, actividad NADPH-reductasas y de ATPasas de la membrana plásmatica, extrusión de ácidos orgánicos o aminoácidos no proteicos y absorción de macro y micronutrientes (Salt *et al.*, 1995; Gries y Wagner, 1998). Es de suma importancia tener en cuenta la implicación de microorganismos asociados que influyen en la entrada de Cd a la planta (McLaughlin y Singh, 1999).

Una vez en la célula, el Cd^{2+} , como la mayoría de los iones metálicos de transición, se unirá preferentemente a donadores de N y S, de grupos funcionales de macromoléculas y ligandos de bajo peso molecular que están presentes de forma constitutiva o bien se sintetizan en respuesta al Cd^{2+} . De esta forma los complejos Cd^{2+} - ligando pueden ser transportados a vacuolas y otros orgánulos celulares (Frausto da Silva y Williams, 2001). La mayor parte del Cd es secuestrado en la vacuola, una vez en la raíz puede pasar al xilema a través del apoplasto y/o simplasto formando complejos. Mediante estudios de espectroscopía de absorción de rayos X se ha visto que, en raíces de *Brassica juncea* el cadmio está coordinado con ligandos de S (Salt *et al.*, 1995). Otros ligandos de unión del cadmio en plantas y algas son el glutatión (GSH), así como péptidos derivados del GSH denominados fitoquelatinas (PCs), y ácidos orgánicos como el citrato (Domínguez-Solís *et al.*, 2004).

Posteriormente, la eficiente translocación del metal al tallo requiere un paso radial por el simplasto, una carga activa en el xilema y la disponibilidad de ligando adecuados en el mismo (Clemens *et al.*, 2002). Hay estudios de que el Cd compite con el Zn en la acumulación en el tallo, lo que sugiere que deben entrar por el mismo sitio. Los componentes esenciales en el camino de desplazamiento de los metales, son los ligandos móviles en el citoplasma y en el xilema, así como el bombeo de metales de células de la raíz al xilema. Datos de espectroscopía de absorción de rayos x sugieren que el cadmio se une a grupos tioles en células de la raíz y a ligando de oxígeno o nitrógeno en el xilema (Salt *et al.*, 1995).

2.5 Efectos fisiológicos

2.5.1 Alteraciones fisiológicas

Una vez que los metales se han movilizado, como se mencionó anteriormente, los metales son capturados por las células de las raíces, donde se unen inicialmente a la pared celular de las células epidérmicas para ser luego traslocados por intercambio iónico al resto de la planta.

La peroxidación lipídica implica la formación y propagación de radicales lípidos, pérdida de O₂ y la eventual destrucción de las membranas, generando una variedad de productos que incluye cetonas, alcoholes, éteres y aldehídos. Uno de estos productos es el malondialdehído (MDA) generado con la ruptura de los ácidos grasos poliinsaturados, el que es utilizado para determinar el grado de peroxidación. Un peculiar biomarcador de estrés oxidativo es el incremento en la concentración de especies generadas por la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico (Buege y Aust, 1978).

2.5.2 Variación en la relación clorofila/carotenoides.

Es aceptado que los metales pesados pueden sustituir al ion Mg en la molécula de clorofila, lo que imposibilita la captación de fotones, generando como consecuencia

una disminución de la actividad fotosintética. Los carotenoides desempeñan un papel importante en el ensamblaje de los complejos captadores de luz y tienen una función indispensable, ya que protegen al aparato fotosintético del daño fotooxidativo (Taiz y Zelger, 2006; Buchanan et al., 2002). Ferrar *et al.*, (2000) indicaron que en condiciones de estrés oxidativo las plantas aumentan sus concentraciones de carotenoides, como una medida para contrarrestar la formación de radicales libres. La relación clorofila/carotenoide disminuye, por lo que puede ser considerada como un biomarcador del estrés generados por los metales pesados. La disminución en la concentración de clorofila es atribuida al hecho de que el cadmio inhibe su biosíntesis a través de las enzimas implicadas en este proceso.

2.5.3 Aumento en la concentración de ácido jasmónico

El ácido jasmónico fue identificado inicialmente como un inhibidor del crecimiento. Actualmente se sabe que está implicado en varios procesos fisiológicos, tales como inhibición de la germinación de las semillas y del crecimiento de las raíces, activación de la producción de inhibidores de proteasas y la síntesis de proteínas antifúngicas (Buchanan *et al.*, 2002; Taiz y Zeiger, 2006), disminución en la actividad del sistema fotosintético (Maslenkova *et al.*, 1990), incremento en la producción de metabolitos secundarios (Blee, 2002), aceleración en el proceso de senescencia (Ueda y Kato, 1980) y adaptación al estrés salino (Walia *et al.*, 2007). (Maksymiec *et al.* 2007), mencionaron que este ácido es aparentemente sintetizado en respuesta a varios estímulos bióticos y abióticos, tales como ataque de patógenos, heridas y estrés osmótico.

Existen evidencias de que los metales pesados inducen la síntesis de proteínas similares a las expresadas en presencia de patógenos, así como la expresión de genes marcadores de la respuesta de hipersensibilidad (Pontier *et al.*, 1999). Basados en estas premisas y considerando que el estrés por metales pesados generaba cambios muy similares a los del ácido jasmónico, surgió la hipótesis que estos efectos se debían a la inducción de una vía de señalización relacionada con la del ácido jasmónico (Maksymiec *et al.*, 2005; Maksymiec, 2007; Maksymiec y Krupa, 2007; Balbi y Devoto, 2008). Una de las evidencias más resaltantes fue la

obtenida por Maksymiec y Krupa (2002) y Maksymiec *et al.* (2007), quienes observaron una disminución en el efecto de los iones de Cd en algunos parámetros de crecimiento y en la actividad del aparato fotosintético en *Arabidopsis thaliana* al aplicar inhibidores de la síntesis de ácido jasmónico.

Cabe destacar que el aumento del contenido de ácido jasmónico no está relacionado con la tolerancia, sino que por el contrario implica un incremento en los procesos degenerativos de las membranas que generan sustratos para la vía de los octadecanoides implicados en la síntesis de jasmonatos (Maksymiec *et al.*, 2005). De aquí que la medición de este parámetro sería un excelente biomarcador para la detección temprana del daño generado por el Cd en las plantas y probablemente por otros metales pesados. Los efectos más notables en plantas expuestas al cadmio han sido reseñados por varios autores y se muestran en la siguiente en la Cuadro 1.

2.5.4 Efecto del cadmio en las plantas

La absorción de Cd por las plantas puede ser facilitada por sustancias ácidos que se producen en la rizósfera. Los exudados radiculares, especialmente los ácidos carboxílicos, aumentan la absorción de Cd (Nigam *et al.*, 2001). En las leguminosas la absorción está favorecida por el carácter ácido del proceso de fijación simbiótica de nitrógeno (Iretskaya *et al.*, 1999).

Entre los factores de la planta que pueden influir en la cantidad de Cd absorbido se encuentra: la especie, la edad y el desarrollo radicular. Alguno cultivos como lechuga, espinaca y nabo han sido considerados de alta absorción, mientras que otros cultivos como trigo, arroz avena y trébol tendrían una menor absorción de cadmio (Ferguson, 1990).

Cuadro 1. Efectos del cadmio sobre las plantas de acuerdo a varios autores.

Efectos	Planta	Referencias
Reducción en el crecimiento y de la elongación de las raíces.	Maíz	Wang y Zhou, 2005; Chaoui y Ferjani, 2005; Pomponi <i>et al.</i> , 2006; Aina <i>et al.</i> ,

		2007; Gianaza <i>et al.</i> , 2007; Wang <i>et al.</i> , 2007.
Inhibición de la apertura estomática.	Frijol	Barceló <i>et al.</i> , 1986 y Poschenrieder, 1990.
Inhibición de la síntesis de clorofila.	Frijol	Padmaja <i>et al.</i> , 1990; Wu <i>et al.</i> , 2004; Drazie y Mihailovic, 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006.
Inhibición de la fotosíntesis.	Elodea	Van Assehe y Clijsters, 1990; Pietrini <i>et al.</i> , 2003; Drazkieiez <i>et al.</i> , 2003; Dalla Vecchia <i>et al.</i> , 2005.
Clorosis.	<i>Baccopa ssp.</i> Balsamina Lenteja de Agua	Aidid y Okamoto, 1992; aravind y Prasad, 2003, 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006.
Disminución en el contenido de carotenoides.	Canola <i>Phyllanthus amarus</i> <i>Baccopa ssp.</i>	Larsson <i>et al.</i> , 1998; Rai <i>et al.</i> , 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006.
Disminución en la tasa de transpiración	Mostaza china.	Haag-Kerwer <i>et al.</i> , 1999; Snalio <i>et al.</i> , 2001.
Inhibición de la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico	<i>Vicia angustifolia.</i> <i>Plantago depressa</i>	Xiong y Peng, 2001.
Aumento en los niveles de peroxidación lipídica	Frijol Ajo <i>Bacopa monnier</i>	Chaoui <i>et al.</i> , 1997; Zhang <i>et al.</i> , 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006; Singh <i>et al.</i> , 2006.
Estrés oxidativo y enzimas antioxidantes	Chícharo Girasol <i>Arabidopsis</i>	Romero-Puertas <i>et al.</i> , 2004, 2007; Gallego <i>et al.</i> , 2005; Maksymiec y Krupa, 2006; Brahum <i>et al.</i> , 2007; Han <i>et al.</i> , 2008.
Inhibición de la fosforilación oxidativa mitocondrial	Papa	Kessler y Brand, 1995.
Interferencia con la toma, transporte y uso de macro y micronutrientes, especialmente Fe, Mn y Zn	<i>Sedum alfredi</i>	Di Toppi y Gabbrielli, 199; Zhou y Qiu, 2005.
Aceleración de la senescencia celular	<i>Sedum alfredi</i>	Di Toppi y Gabrielli, 199; Zhou y Qiu, 2005.
Reacciones semejantes a la hipersensibilidad	Tabaco	Piqueras <i>et al.</i> , 1999.
Reducción del intercambio normal de H ⁺ /K ⁺ y la actividad de la ATPasa de membrana plasmática	Chícharo, frijol, calabaza y arroz	Obata <i>et al.</i> , 1996.
Disturbio en el control Redox y el metabolismo	Micorrizas Chícharo	Schutzendubel y Poller, 2002; Devi <i>et al.</i> , 2007; Ernst <i>et al.</i> , 2008.
Polimorfismos en el ADN	Lenteja de agua	Mukherjee <i>et al.</i> , 2004; Liu <i>et al.</i> , 2005.

Lechoczky *et al.* (2000), concluyeron que la concentración de Cd en los tejidos vegetales puede llegar a ser varias veces superior a la presente en el suelo.

Realizaron un análisis en plantas de lechuga y la concentración del metal fue 16

veces mayor la concentración en las plantas de lechuga (materia seca) que la encontrada en el suelo.

La presencia de Cd en suelos puede limitar la absorción y translocación dentro de la planta de otros elementos que también forman iones divalentes como Ca, Mg, Zn, Fe y Mn (Smilde *et al.*, 1992; Oliver, *et al.*, 1994; Gupta, 1998; Llamas *et al.*, 2000). Aunque el principal síntoma de contaminación de cadmio es la disminución de crecimiento de las plantas, dependiendo de la sensibilidad de la especie, también es posible la aparición de otros síntomas como clorosis, hojas arrugadas y coloración marrón-rojiza (Ferguson, 1990). En plantas tolerantes al Cd, Wagner (1995) concluyó que la aparición de síntomas sólo ocurre a muy elevadas concentraciones del elemento, por lo que es posible la comercialización de partes vegetales con concentraciones de cadmio muy superiores al máximo permisible para los alimentos, como productos de aparente buena calidad. En México Castillo *et al.* (2007), tuvieron como resultado que la planta de nopal *Opuntia ficus indica*, acumula metales a partir del agua de riego. La planta es capaz de absorber iones metálicos del agua de río.

2.6 Fuentes antropogénicas de metales pesados

Los metales pesados son de origen antrópico cuando sus concentraciones son mayores a las correspondientes a su composición geoquímica y son el resultado de las actividades humanas: industriales, minera y agrícolas. Los metales pesados no pueden ser degradados o destruidos, pueden ser disueltos por agentes físicos o químicos y ser lixiviados. Algunos forman complejos solubles y son transportados a los ecosistemas, incorporándose a la cadena trófica (suelo, agua, plantas, semillas forrajes). En el Cuadro 2, se indican las fuentes de contaminación de los alimentos por metales pesados.

Cuadro 2. Fuentes de contaminación de alimentos por metales pesados.

Fuente de contaminación	Metal pesado involucrado
Insecticida, desinfectantes y medicamentos	As, Cu, Pb, Hg

Envases de vidrio	Si
Equipos de almacenamiento	Cu, Fe, Ni, Sn, Pb, Zn
Procedentes del suelo	Cd, Br, F, Cu
Debido a su almacenamiento	Fe, Ni, Sn, Pb, Cd, Sr
Por oxidación del envase	Fe, Cu
Suplementos alimenticios en dietas para ganado	Cu, Cd, Fe, Zn, As

Fuente. Arnold, 1980.

Una de las vías de incorporación del Cd a los suelos agrícolas es la fertilización fosfática. Las rocas fosfóricas, que son la materia prima de todos los fertilizantes fosfáticos, contienen niveles de metales pesados que varían según su origen geográfico, pero generalmente son superiores al promedio de la corteza terrestre. Los metales permanecen en una proporción importante en los agroquímicos y posteriormente son aplicados al suelo junto con el fósforo (Charter *et al.*, 1993; Mermut *et al.*, 1996; Mortvedt, 1996, Gabr y Rodella, 1999).

A partir de las aguas residuales urbanas se obtienen lodos que por su contenido de nutrientes son usados en la fertilización de cultivos y que debido a sus altos niveles en materia orgánica se ha comprobado que son útiles en la bioremediación de suelos afectados por procesos de desertificación (García *et al.*, 1994; Ayuso *et al.*, 1996; Summer, 2000). Cuando estos lodos provienen de aguas residuales, su aplicación periódica en áreas agrícolas produce la acumulación de estos elementos en los suelos (Jing y Loga, 1992; Taylor *et al.*, 1995; Canet *et al.*, 1998; Krebs *et al.*, 1998; Kawasaki *et al.*, 2000).

Entre los metales pesados que están presentes en los lodos, es el cadmio el que representa más riesgo ambiental por su movilidad en los suelos y la facilidad con que es absorbido por las plantas.

El Cd de origen antropogénico, tiene mayor disponibilidad que el proveniente de la meteorización de rocas, pero su absorción por las plantas depende de factores del suelo y del cultivo. Mientras mayor sea el pH del suelo, mayor será la retención de

cadmio. Esto es debido a la formación de especies con menor densidad de carga negativa por la unión del ion metálico con los iones de OH^- y el incremento de las cargas negativas en la superficie de óxidos o de otros materiales de carga variable donde el ion metálico puede adsorberse (Wu *et al.*, 2000). La presencia de carbonatos también contribuye a la retención de cadmio en formas poco disponibles para las plantas (Cala Rivero *et al.*, 1997; Hooda y Alloway, 1998; García *et al.*, 2000).

La mineralogía de los suelos también es un factor determinante en la disponibilidad de cadmio para las plantas. Los suelos que posean elevada capacidad de intercambio catiónico, ya sea por su material parental o su proceso edafogénico, tendrán también una mayor capacidad para retener Cd. La cantidad de cadmio nativo en los suelos generalmente sigue el orden natural de la evolución de éstos, con los valores más bajos en los suelos más evolucionados, de pH ácido, bajos valores de Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) y textura gruesa (Holmgren *et al.*, 1993; Ma *et al.*, 1997).

La materia orgánica puede tener efectos contrarios sobre la disponibilidad de cadmio. La fracción soluble puede acomplejar el Cd, facilitar su movilidad en el suelo y al mineralizarse, dejar al metal en forma más disponible para las plantas. Reacciones en las que se originen productos ácidos en el suelo o variaciones con tendencia a disminución en el pH de éste, favorecerán la disponibilidad de cadmio, como podría ocurrir con la aplicación de ciertos fertilizantes y enmiendas, con la incorporación de materia orgánica en las etapas iniciales de descomposición o en el caso de ciertas prácticas de manejo.

2.7 Efectos en la salud

Los efectos de la toxicidad por Cd dependen del tipo de exposición, ya sea a través de la inhalación de aire contaminado, particularmente cerca de fundidoras y las

incineradoras o del humo del cigarro, consumo de alimentos y agua contaminados (Martínez *et al.*, 2012).

La Organización Mundial para la Salud ha propuesto límites de exposición (EPT) con base en la concentración en tejidos directamente afectados. Se han definido términos como "ingestión semanal provisional tolerable", que para Cd es de 400 a 500 μg , deduciendo que la concentración crítica en la corteza renal es de 200 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Ramírez, 2002). La carencia de metales esenciales como el hierro (Fe), Cu, Zn y calcio (Ca) en el cuerpo humano facilita la absorción de Cd, por lo tanto sus órganos blanco son el riñón (especialmente la corteza renal), hígado, pulmón, hueso y placenta. Se estima que entre un 10-50% de Cd se absorbe en pulmón, mientras que a nivel gastrointestinal la absorción es del 8% (Martínez *et al.*, 2012).

3. JUSTIFICACIÓN

La demanda de alimentos a nivel mundial requiere un aumento en la producción agrícola, lo cual representan un incremento del uso de suelo y de sistemas intensivos, sin embargo, esto ha llevado a forzar a la agricultura y acelerar las etapas fenológicas de cultivo en el mundo. El cultivo de papaya, un recurso muy apreciado en el mercado internacional, es considerado un frutal que exige grandes cantidades de nutrientes, así como el uso intensivo de plaguicidas para dar un control contra plagas y enfermedades. No obstante, el uso excesivo y prolongado de fertilizantes inorgánicos es considerado como una fuente de contaminación por cadmio, ya que, los fertilizantes traen consigo trazas de metales pesados y tienden a acumularse en los suelos. Se ha reportado que las plantas pueden absorber los metales pesados a través de la absorción de los nutrientes esenciales a niveles que pueden causar fitotoxicidad. La aplicación prolongada de fertilizantes fosfatados en suelos agrícolas repercute en la nutrición vegetal, teniendo como consecuencia cambios fisiológicos negativos. El Cd, considerado como un metal pesado muy tóxico, sin funciones biológicas en los seres vivos, llega a bioacumularse en las partes estructurales de las plantas; los efectos en plantas está relacionado con la inhibición del crecimiento, e inhibición de los procesos fotosintéticos, así como problemas en la productividad de los cultivos, pero la preocupación principal es cuando puede introducirse en la cadena trófica si llega a las partes comestibles.

4. HIPÓTESIS

A mayor concentración de Cd existe un efecto negativo en el cultivo de papaya, afectando su desarrollo y crecimiento, durante su primer fase fenológica vegetativa.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar el efecto fisiológico y factor de traslocación en plántulas en su etapa vegetativa de *Carica papaya* L. por la adición de Cd.

5.2 Objetivos Específicos

- Analizar la respuesta fisiológica del cultivo de *Carica papaya* L. por la adición de tres concentraciones de Cd.
- Determinar la concentración de Cd en los órganos de las plántulas de *Carica papaya* L.
- Estimar el factor de traslocación de Cd de las plántulas de *Carica papaya* L.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Germinación y crecimiento de plantas

El presente estudio utilizó semillas de papaya maradol de la marca Maribel, obtenida por productores de la zona de Cotaxtla, Ver. Las semillas se colocaron entre paños húmedos esterilizados y humedecidos con agua destilada, los cuales se mantuvieron en oscuridad hasta su germinación. Para la siembra se utilizaron bolsas de polietileno de capacidad de 250 g. Las semillas germinadas se colocaron en cada sustrato a 1 cm de profundidad y posteriormente se cubrieron con el mismo sustrato. Las plantas se mantuvieron protegidas de la luz directa utilizando malla sombra.

6.2 Adición del metal

Las plántulas se regaron con agua corriente hasta mantener una humedad del 60% diariamente. Dos semanas después del trasplante, se inició el tratamiento con la adición de Cd; para lo cual se emplearon concentraciones de 50, 100 y 150 mg·L⁻¹ utilizando CdCl₂, el cual se agregó en la solución nutritiva y fue administrada cada semana (Iannacone y Alvarino, 2009). Se incluyó un tratamiento testigo, sin la adición de metal para cada sustrato. Las plántulas con dos semanas de crecimiento, se les comenzaron adicionar los nutrientes en una relación de 16:31:19 de N-P-K, La solución nutritiva fue ajustada a un pH de 6 y fue administrada en el agua de riego, administrada por un sistema por goteo.

6.3 Diseño experimental

El diseño experimental se realizó en un ensayo completamente al azar con 3 réplicas, cada unidad contienen 8 plantas de papaya y las cuatro concentraciones de Cd (0, 50, 100 y 150 mg L⁻¹) adicionada en el agua de riego, una vez a la semana. Se implementó un diseño factorial mixto de dos vías (tratamiento de Cd considerado como factor fijo y matrices de papaya considerado como factor aleatorio) contando

con ocho réplicas. Se implementó tres tratamientos de cadmio, que se aplicaron en cada una de las matrices. La aplicación de Cd se efectuó semanalmente vía gotero. Adicionalmente, se consideró un tratamiento control, denominado como blanco, que consistió en matrices de papaya sin Cd, aplicando riego normal de modo continuo. El experimento tuvo una duración de 75 días. Al terminar el experimento se obtuvo una muestra de cada matriz por tratamiento para realizar un análisis de la concentración de Cd por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica en las partes fisiológicas (raíz, tallo, hojas) de la planta.

6.4 Medición de variables

6.4.1 Prueba de viabilidad en semillas

Se realizó una prueba de viabilidad por el método de tetrazolio como describe ISTA (2014), con el fin de evaluar si las semillas utilizadas eran viables y con potencial para producir una plántula normal, así como descartar la interferencia de los resultados fisiológicos obtenidos por la adición de Cd. Se seleccionaron 100 semillas, escogidas al azar y se colocaron a remojar en agua destilada por 8 h, para facilitar la penetración de la solución de tetrazolio. Seguido se realizaron un corte recto longitudinal para obtener dos mitades exactas cada semilla de papaya, y se seleccionó una de las mitades obtenidas. Posteriormente las semillas se sumergieron en una solución de 2,3,5-trifenil cloruro de tetrazolio al 1% de pH 6.5–7.5. Las semillas se mantuvieron a 30°C por 2 horas, fueron estudiadas en el estereoscopio para determinar su viabilidad, tomando como parámetro la intensidad de la coloración roja en el embrión.

6.4.2 Variables fisiológicas.

Se registraron mediciones fisiológicas sobre el desarrollo de la planta de papaya las cuales fueron realizadas cada cinco días hasta alcanzar los 75 días de la primera etapa de desarrollo vegetativo. Para esto se midieron las siguientes variables:

- Altura
- Grosor del tallo
- Número de hojas

- Clorofila indirecta
- Área foliar
- Biomasa estructural
- Concentración de Cd

La clorofila indirecta se realizó un medidor portátil SPAD-502, seleccionando hojas superiores y maduras. Se realizaron dos lecturas por planta en hojas diferentes para cada tratamientos.

La biomasa estructural se realizó como se indica en la NMX-F-257-S-1978, que consiste en secar la raíz, tallo y hojas por separado a 60-70°C, hasta obtener la muestra seca, para continuar con los análisis de metales pesados.

El área foliar

6.4.3 Determinación de cadmio por espectrofotometría de absorción atómica

Finalmente se midió el contenido de Cd en cada una de las partes estructurales de la planta de papaya. La técnica para determinación de metales pesados se realizaron bajo las especificaciones de NOM-117-SSA1-1994, de espectrometría de absorción atómica. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de investigación de recursos acuáticos (LIRA) del Instituto Tecnológico de Boca del Río.

Las muestras de raíz, tallo y hoja fueron secadas en charolas a 35°C, y posteriormente fueron tamizadas para la obtención de las partículas más finas. Para la digestión, se pesaron 0.5 g de muestra de suelo y se le adicionaron 10 ml de ácido nítrico (HNO_3) grado reactivo al 70% (suprapuro) J.T.Baker®. Se colocaron en vasos de teflón, y se introdujeron al microondas CEM Mars 5 (CEM, Corporation Mathews, NC, USA). Después de la digestión, las muestras se filtraron usando una botella Nalgene con un filtro Millipore modelo HAWP04700 de 0.45 μm , y una bomba de vacío. El filtrado fue transferido a un matraz volumétrico de 25 ml y aforado con agua destilada deionizada ($1 \mu\text{mho}\cdot\text{cm}^{-1}$ a 25°C). Las muestras fueron transferidas a frascos ámbar de cristal previamente rotulado y se conservan en refrigeración hasta su análisis. Se utilizó un equipo de absorción atómica Thermo Cientific Modelo

Ice 3500 AA System (Thermo Scientific®). En el análisis de Cd se realizó con el horno de grafito con argón (5.0 pureza ultra alta) marca Praxair (Praxair® Technology, Inc), Finalmente se procedió a la lectura de las muestras en el equipo.

6.5 Factor de traslocación (TF)

Se determinó dividiendo la concentración de la fitobiomasa de la raíz de la planta, utilizando la siguiente relación (Peña 2009).

$$TF = [\text{metal}]_{\text{aérea}} / [\text{metal}]_{\text{raíz}}$$

Donde:

TF= Factor de traslocación

$[\text{metal}]_{\text{raíz}}$ = Concentración del metal en la raíz de la planta en mg kg^{-1}

$[\text{metal}]_{\text{aérea}}$ = Concentración del metal en la parte aérea de la planta en mg kg^{-1}

6.6 Factor de biocenconcentración (FBC)

Se determinó dividiendo la concentración del metal de la fitomasa de la planta entre la concentración del metal en el suelo.

$$FBC_{\text{Raíz}} = \frac{[\text{Cd}]_{\text{Raíz}}}{[\text{Cd}]_{\text{Suelo}}} \quad FBC_{\text{Aérea}} = \frac{[\text{Cd}]_{\text{Aérea}}}{[\text{Cd}]_{\text{Suelo}}}$$

Donde:

$FBC_{\text{Raíz}}$ = Factor de bioconcentración en las raíz de la planta.

$FBC_{\text{Aérea}}$ = Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta.

$[\text{metal}]_{\text{raíz}}$ = Concentración del metal en la raíz de la planta en mg kg^{-1} .

$[\text{metal}]_{\text{aérea}}$ = Concentración del metal en la parte aérea de la planta en mg kg^{-1} .

$[\text{metal}]_{\text{suelo}}$ = Concentración del metal en el suelo en mg kg^{-1} .

6.7 Análisis estadístico de los resultados

Para el análisis estadístico de estas variables se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) usando el software Minitab 19 y considerando un diseño de bloques

aleatorios con el modelo estadístico $y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$, en donde y_{ij} es la variable respuesta, μ es la media entre tratamientos, T es el efecto fijo de i tratamientos, B es el efecto aleatorio de j matrices consideradas como bloques y e es el error residual de los i tratamientos y j bloques. Este diseño permite tanto controlar el efecto de las matrices de papaya, como también obtener una mejor estimación de los efectos de tratamientos de cadmio. Para verificar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov utilizando el software SPSS STATISTICS. Para analizar las diferencias significativas en el efecto del cadmio en los diferentes tratamientos se realizó la prueba de Tukey en el programa Minitab.

7. RESULTADOS

7.1 Viabilidad de las semillas

El porcentaje de viabilidad por la prueba de tetrazolio en papaya maradol (*Carica papaya* L.) de marca Maribel, mostraron que el 98.3% son viables, por lo que los efectos del cadmio en la planta no son debido a la viabilidad de las semillas (Figura 2).

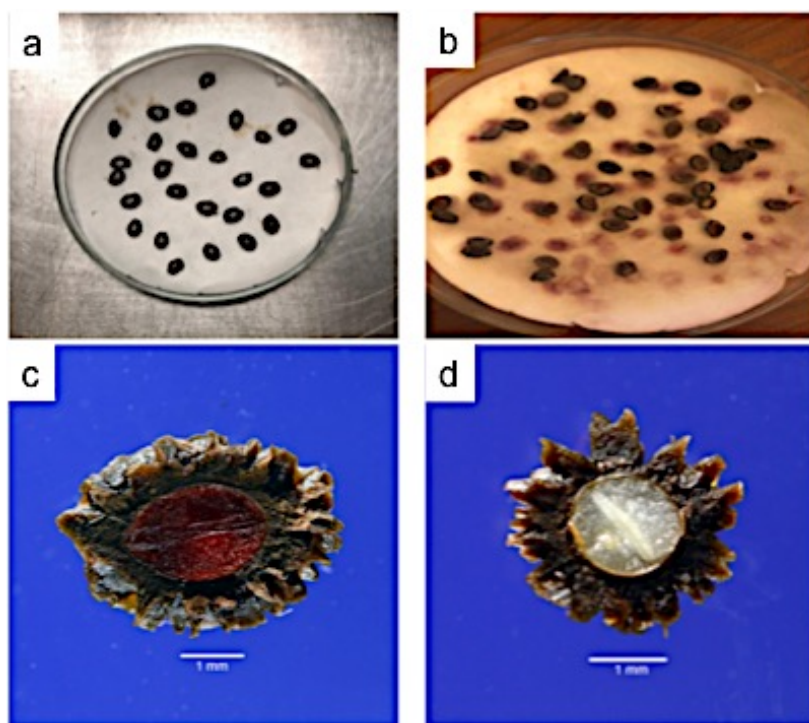


Figura 2. Prueba de viabilidad por tetrazolio. a) Semillas cortadas y sumergidas en el reactivo de tetrazolio, b) Semillas después de incubación, c) Semilla coloreada indica que es viable, d) Semilla no coloreada indica que no es viable.

7.2 Efectos fisiológicos

Se aplicó el análisis de varianza a las variables fisiológicas (altura, grosor de tallo, número de hojas, área foliar y clorofila indirecta) en los cuatro tratamientos de las plántulas de papaya maradol (*Carica papaya* L.). El análisis de comparación de los cuatro tratamientos mostró diferencias significativas entre los tratamientos y las repeticiones.

El análisis para grosor de tallos (Figura 3) mostró diferencias entre el tratamiento control y el tratamiento de 150 mg L⁻¹; siendo el tratamiento control el que alcanzó tallos más gruesos. El tratamiento de 50 mg L⁻¹ y el 100 mg L⁻¹ indica que son estadísticamente similares; ya que los grosores de tallo manifiestan un crecimiento análogo.

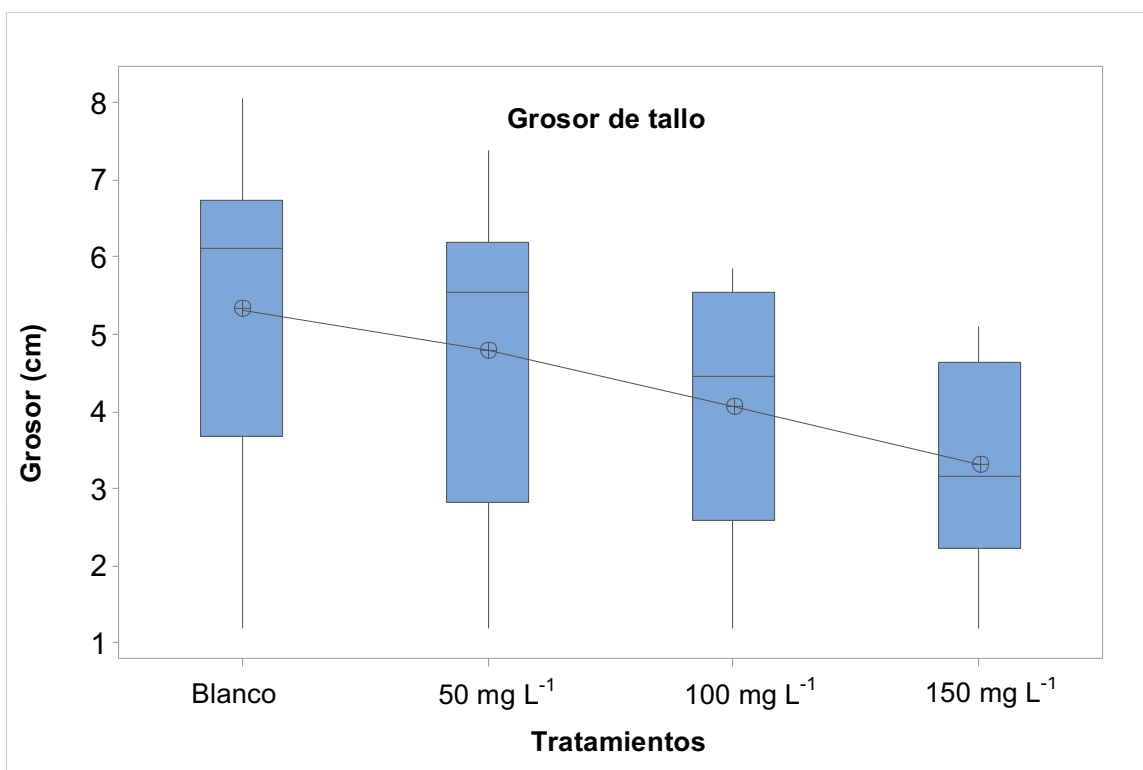


Figura 3. Valores de grosor de tallo de las plántulas de *Carica papaya*, bajo diferentes concentraciones de Cd, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento control y el tratamiento de 150 mg L⁻¹.

El análisis para clorofila indirecta (Figura 3) mostró diferencias significativas entre el tratamiento control y el resto de los tratamientos; obteniendo éste valores más altos de clorofila indirecta. El tratamiento de 100mg L⁻¹ presentó un menor rango de clorofila indirecta, mientras que el tratamiento de 150 mg L⁻¹ obtuvo los valores más bajos de clorofila indirecta.

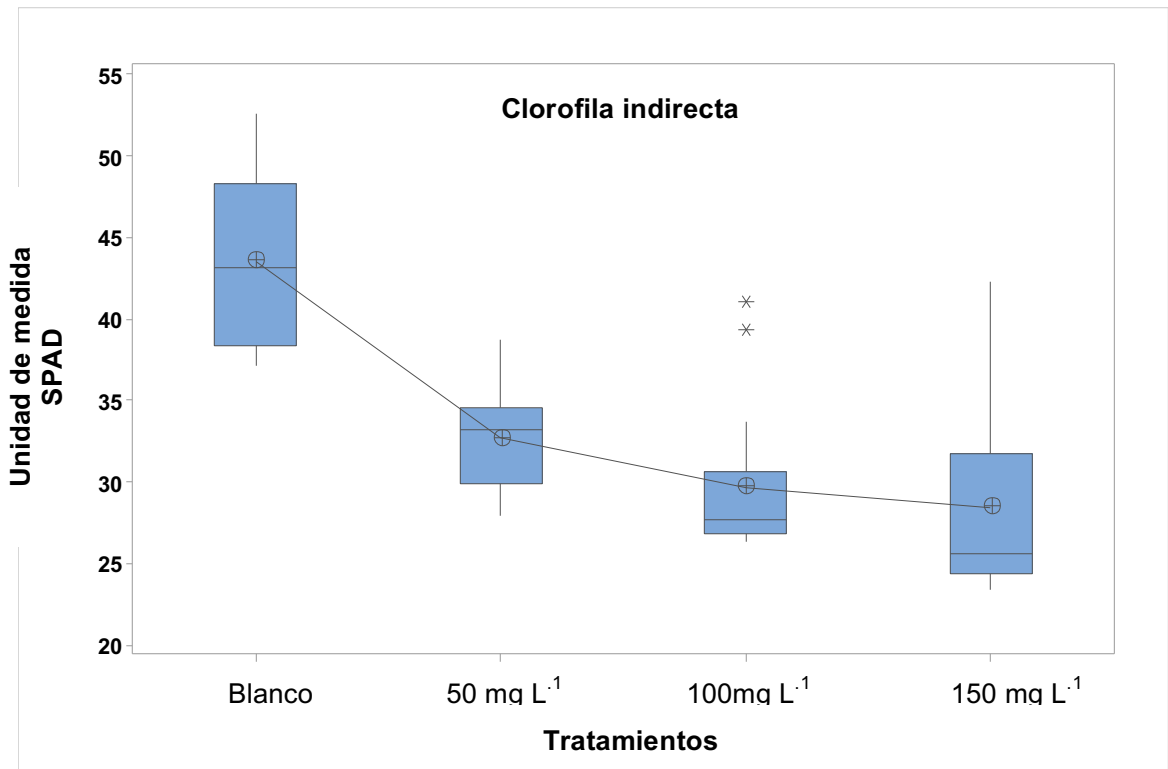


Figura 4. Valores de clorofila indirecta de las plántulas de *Carica papaya*, bajo diferentes concentraciones de Cd, mostrando diferencias estadísticamente significativas en todos los tratamientos.

Los resultados obtenidos en el número de hojas (Figura 4) no reflejó diferencias significativas en cuanto a sus rangos más bajos en número de hojas. Alcanzó diferencias significativas en el rango más alto de número de hojas del tratamiento control y el tratamiento de 150 mg L⁻¹, alcanzado este último un promedio máximo de nueve hojas en las repeticiones.

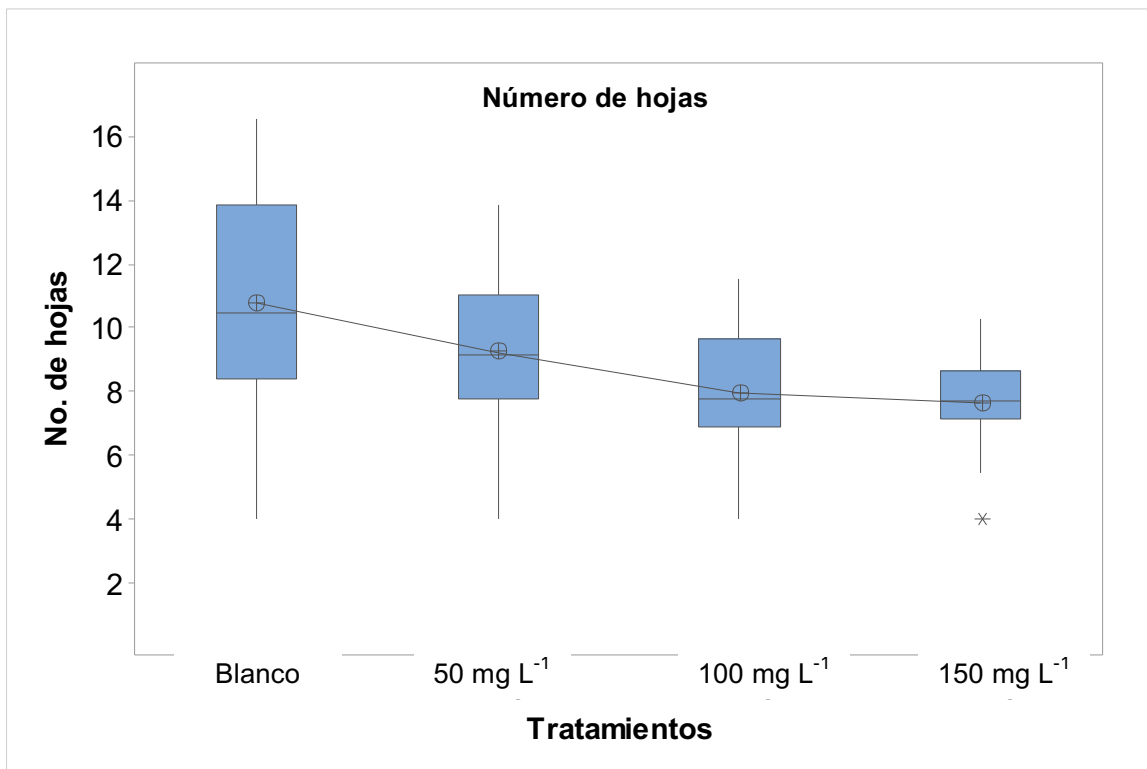


Figura 5. Valores de conteo de hojas de las plántulas de *Carica papaya*, bajo distintas concentraciones de Cd, evidenciando diferencias estadísticamente significativas en sus rangos.

Los resultados obtenidos en altura de tallos (Figura 5) arrojó diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento de 150 mg L⁻¹. El rango promedio de las alturas del tratamiento de 100 mg L⁻¹ y 150 mg L⁻¹ no mostró diferencias significativas. La altura máxima alcanzada entre los 25cm y 30cm en el tratamiento control; mientras que la altura máxima lograda en las plantas con el tratamiento de 150 mg L⁻¹ fue alrededor de los 22cm.

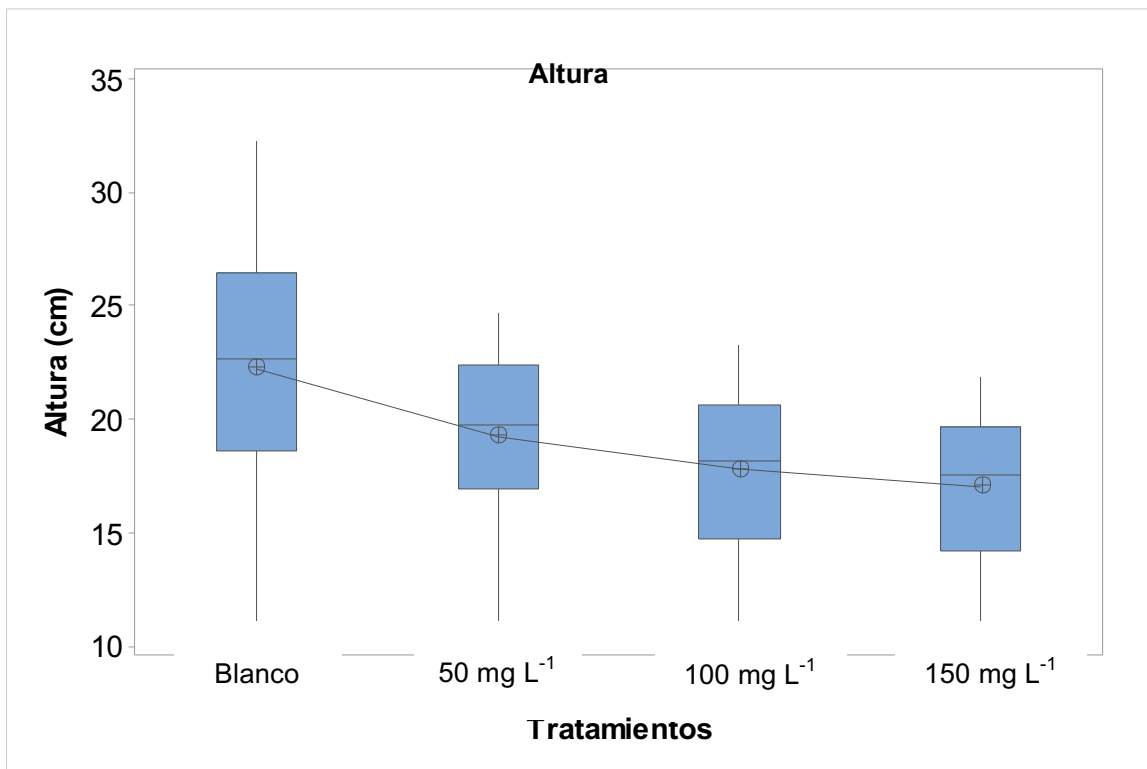


Figura 6. Valores de altura de las plántulas de *Carica papaya*, bajo distintas concentraciones de Cd, El rango promedio no mostró diferencias estadísticamente significativas.

7.3 Concentración de Cd

Las concentraciones de Cd en las hojas oscilaron entre los valores mínimos de 0.26 mg K⁻¹ y 0.32 mg K⁻¹ y los valores máximos observados fueron de 0.55 mg K⁻¹ y 0.65 mg K⁻¹.

Las concentraciones de Cd en los tallos fluctuaron de los valores mínimos de 0.93 mg K⁻¹ y 109 mg K⁻¹ y los valores máximos registrados fueron de 0.235 mg K⁻¹ y 0.491 mg K⁻¹.

Las concentraciones de Cd en las raíces variaron de los valores mínimos de 0.027 mg K⁻¹ y 0.036 mg K⁻¹ y los valores máximos obtenidos fueron de 0.778 mg K⁻¹ y 0.814 mg K⁻¹.

Cuadro 3. Concentraciones obtenidas, medias y desviación estándar en los órganos de la planta de *Carica papaya*.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desv. Std.
Control-hojas	0.038	0.045	0.033	0.039	0.006
Control-tallo	0.118	0.093	0.109	0.107	0.013
Control- raíz	0.048	0.027	0.036	0.037	0.011
50 mg L ⁻¹ hojas	0.032	0.045	0.043	0.040	0.007
50 mg L ⁻¹ tallo	0.121	0.093	0.127	0.114	0.018
50 mg L ⁻¹ B-raíz	0.178	0.152	0.162	0.164	0.013
100 mg L ⁻¹ hojas	0.026	0.055	0.038	0.040	0.015
100 mg L ⁻¹ tallo	0.235	0.180	0.238	0.218	0.033
100 mg L ⁻¹ raíz	0.434	0.381	0.388	0.401	0.029
150 mg L ⁻¹ hojas	0.065	0.042	0.046	0.051	0.012
150 mg L ⁻¹ -tallo	0.491	0.442	0.432	0.455	0.032
150 mg L ⁻¹ raíz	0.814	0.778	0.751	0.781	0.032

La prueba de diferencias significativas no mostró diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento control y el tratamiento de 50 mg L⁻¹, mientras que el tratamiento control y el tratamiento de 100 mg L⁻¹ y 150 mg L⁻¹ arrojó diferencias significativas.

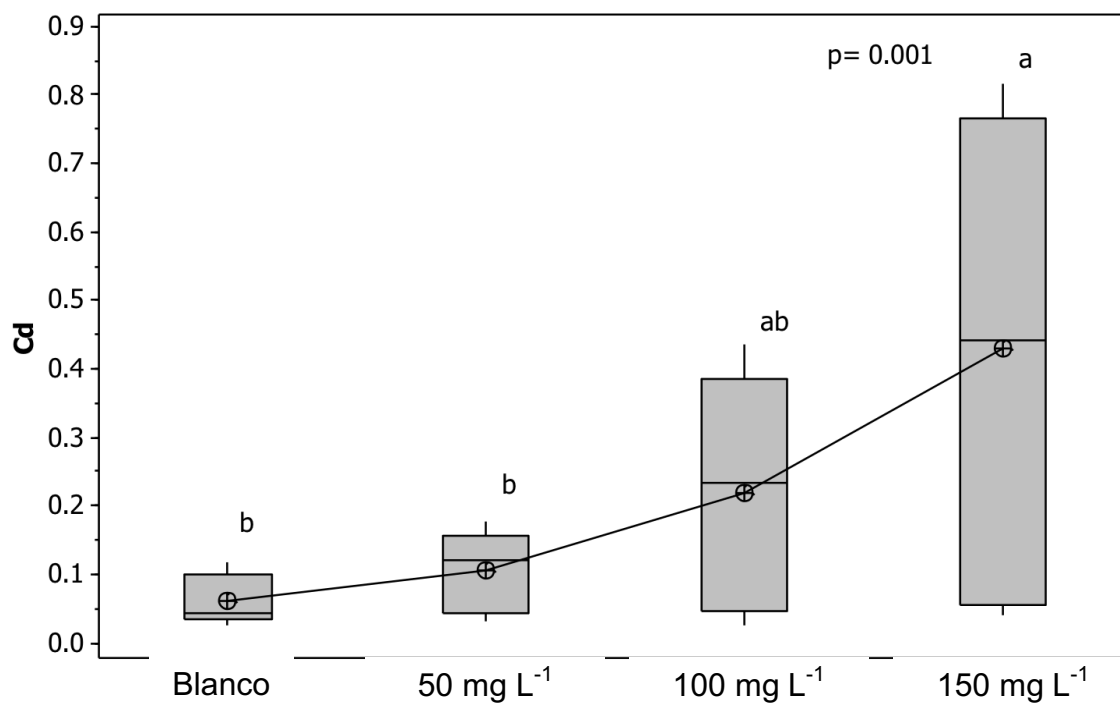


Figura 7. ANOVA unidireccional para concentraciones de Cd en tratamientos. Análisis Tukey, letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas. La mayor concentración de Cd se observó de: RAÍZ > TALLO > HOJAS.

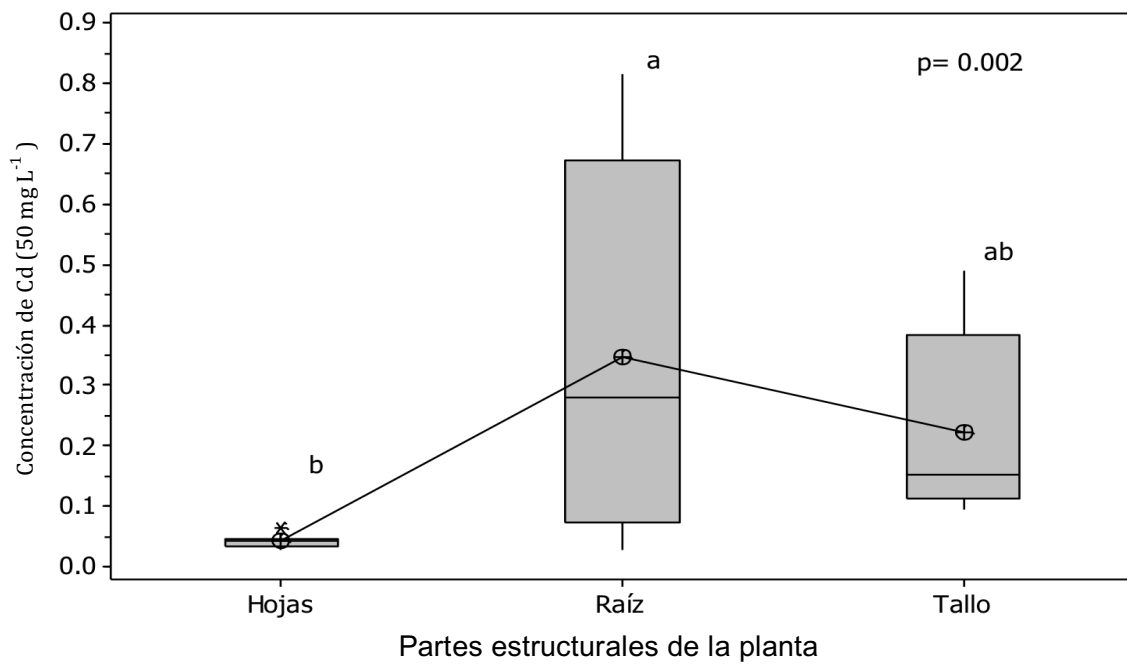
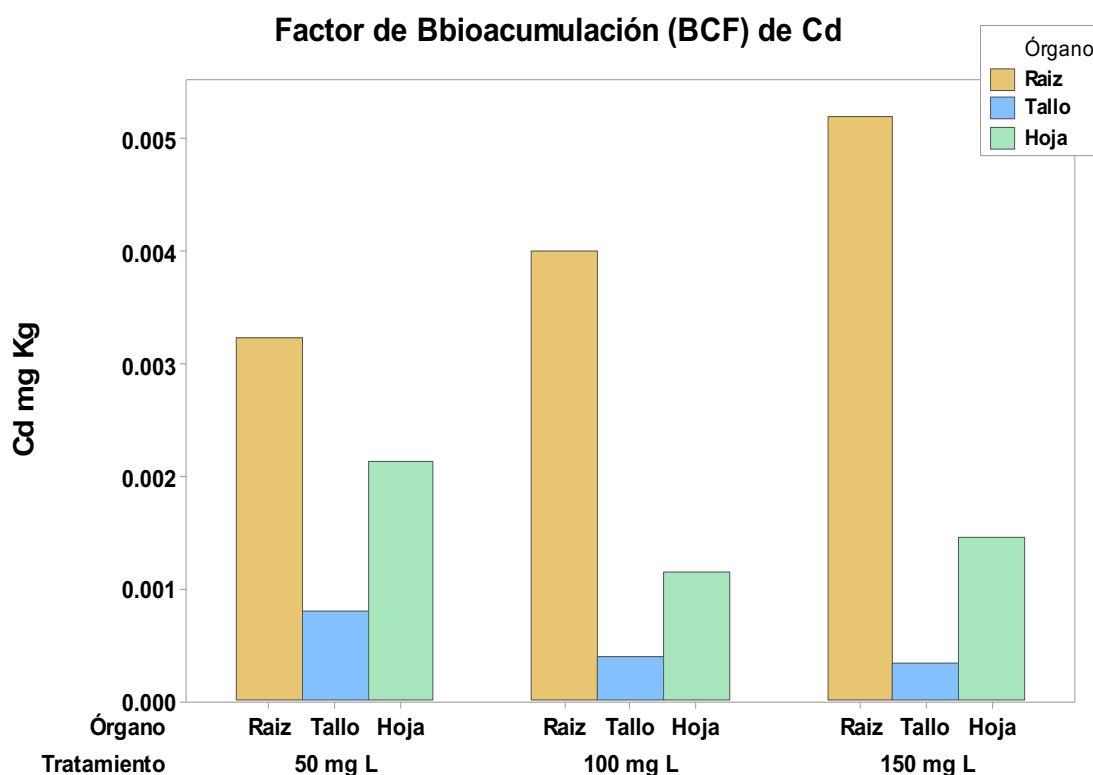


Figura 7. ANOVA unidireccional para concentraciones de Cd en hojas, raíz y tallo. Análisis Tukey, letras distintas indican diferencia significativa.

7.4 Factor de bioconcentración (BCF)



El factor de bioconcentración para el órgano raíz presenta los valores más altos en todos los tratamientos, que oscilan de 0.003 mg L^{-1} a 0.005 mg L^{-1} . El órgano tallo presentó los valores más bajos en los distintos tratamientos, que ondean de 0 mg L^{-1} a 0.001 mg L^{-1} . El órgano hojas presentó valores que oscilan de 0.001 mg L^{-1} a 0.002 mg L^{-1} .

Figura 8. Factor de bioconcentración en los diferentes órganos de la planta *Carica papaya*.

7.5 Factor de traslocación (TF)

Los valores obtenidos en el factor de traslocación en todos los tratamientos y órganos estudiados rebasan el límite máximo permisible de concentración de Cd en pulpa de papaya, de acuerdo al CODEX INTERNACIONAL. El tratamiento control en los órganos de tallo con 1.1 mg L^{-1} y hoja con 2.9 mg L^{-1} , están por encima de los demás tratamientos; valores <1 indican hiperacumulación.

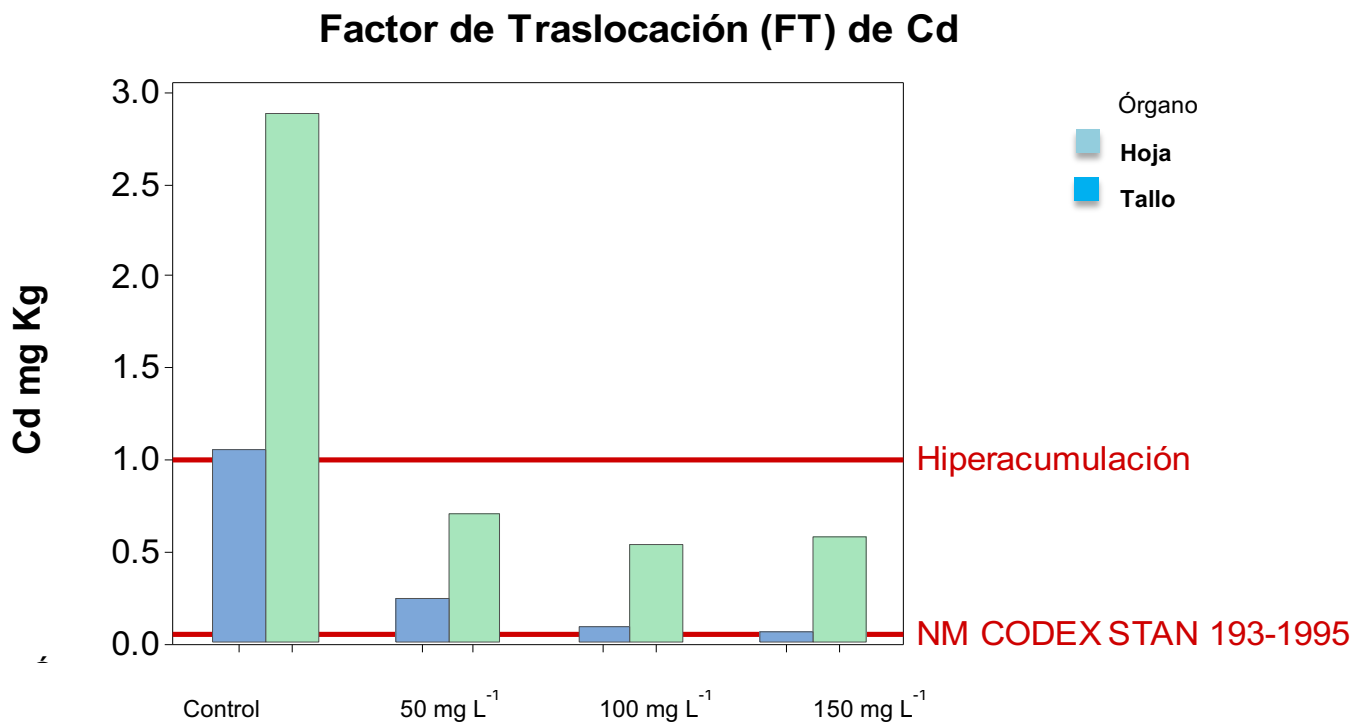


Figura 9. Factor de traslocación en los diferentes órganos de la planta *Carica papaya*.

8. DISCUSIÓN

8.1 Viabilidad de las semillas

La prueba de viabilidad con Tetrazolio está relacionada a aquellas semillas que son capaces de producir plántulas normales en una prueba de germinación bajo condiciones favorables, después que ha perdido la latencia. El porcentaje de germinación no incluye la proporción de semillas con latencia y la proporción de las cuales desarrollaron plántulas enfermas o anormales, ambas de esas proporciones son, sin embargo, incluidas en el porcentaje de semillas viable.

A pesar de que se obtuvo una coloración del 98% de las semillas sometidas a esta prueba, no es posible distinguir qué planta desarrollará enfermedades o virosis con base a una evaluación de su patrón de coloración (Lakon, 1918, 1952; Grabe, 1970; Steiner y Fuchs, 1981; Moore, 1985).

A pesar de que la prueba de Tetrazolio no permite conocer cómo se desarrollará la planta a futuro, es una técnica valiosa para determinar los motivos de una pobre germinación; permitiendo identificar síntomas de debilidad en las semillas causada por factores ambientales adversas o daños por fauna nociva (Zorato, 2001).

8.2 Efectos fisiológicos

Los mecanismos de la toxicidad del Cd aún no se conocen completamente. El Cd puede alterar la entrada de minerales en la planta, ya sea por el efecto que ejerce sobre la disponibilidad de los mismos en el suelo, o bien por la reducción de microorganismos del suelo (Moreno *et al.*, 1999). Las plantas expuestas a suelos contaminados por Cd presentan modificaciones en la apertura estomática, la fotosíntesis y transpiración (Sanità di Toppi *et al.*, 1999; Sanalio *et al.*, 2001; Seregein e Ivanov, 2001). Uno de los síntomas más visibles de la toxicidad por Cd es la clorosis. Al agrupar los efectos fisiológicos del Cd en la planta de *Carica papaya*, la afectación más visible fue la disminución de la clorofila indirecta; influyendo en la disminución del número de hojas en las plantas.

Esta disminución de clorofila indirecta, se vuelve notoria a través de la clorosis ; ésta puede aparecer por una deficiencia en Fe (Keller *et al.*, 2004; Benavides *et al.*, 2005), deficiencia de fósforo o reducción del transporte de Mn (Goldbol y Hutterman, 1985). El tratamiento por Cd produce una reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática (Fodor *et al.*, 1995; Astolfi *et al.*, 2005), produciendo desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO₂ (Ali *et al.*, 2000; Maksymiec *et al.*, 2007).

8.3 Concentración de Cd, bioconcentración y traslocación

La distribución y disponibilidad del cadmio en el suelo está determinada por las características físicas, químicas y biológicas de este sistema, dado que influyen sobre la actividad y concentración de este metal en el suelo. El tipo de arcilla, los óxidos e hidróxidos y el contenido de materia orgánica forman parte de la fase sólida del suelo y proporcionan cargas permanentes y variables responsables de la adsorción de este metal. También el pH y el potencial de oxidación son algunos de los factores que afectan la disponibilidad del cadmio en el suelo. Cuando el pH aumenta, la concentración de cadmio en la solución del suelo disminuye (Kabata-Pendias y Pendias , 2001; McLaughlin *et al.*, 2000; Jinadasa *et al.*, 1997; McBride, 1991).

No todos los órganos de la planta tienen la misma tendencia a la acumulación de Cd; normalmente la raíz es el órgano prioritario de entrada y de acumulación. En la investigación realizada por Lorenz *et al.* (1996), en suelos europeos contaminados con metales pesados y cultivados con rábanos, obtuvieron que las concentraciones de Cd, Zn y otros elementos en el suelo generalmente, disminuían durante el crecimiento del cultivo, probablemente porque los mismos eran absorbidos por la planta o redistribuidos en los sitios de intercambio del suelo. La misma dinámica fue observada en el presente estudio, la raíz fue el órgano que presentó mayores niveles de concentración de Cd. Donde se observó un elevado nivel de traslocación de la raíz a las hojas. Barcelo y Poschenreider (1992) señalan la presencia de un mecanismo de transporte de los metales a través del xilema que los transloca hasta

las hojas y órganos reproductivos, además señalan como principales mecanismos de tolerancia a los metales, la

exclusión selectiva del metal en el proceso de absorción, la excreción de compuestos por la raíz, la disponibilidad del metal, la retención en la raíz e inmovilización del metal en la pared celular y vacuolas.

9. CONCLUSIONES

Suelos contaminados con Cd mostraron efectos negativos en el desarrollo en la planta de papaya, durante su etapa vegetativa.

A mayor concentración de Cd en suelo, aumenta la capacidad de absorción en la rizósfera de la planta, logrando utilizar a la planta con fines de fitoestabilización.

El aumento de la concentración de Cd en el suelo, influye en el factor de traslocación en los órganos de la planta de papaya, los resultados arrojados mostraron que la planta de papaya es hiperacumuladora, pudiéndose utilizar con fines de fitoextracción.

Existe una bioconcentración mayor de Cd en raíces, que en tallos y hojas, teniendo la facultad de ser una planta con fines de fitoestabilización.

Los valores obtenidos de bioconcentración y traslocación en los órganos de la planta de papaya, rebasan los límites máximos permisibles en pulpa de *Carica papaya* de acuerdo al CODEX INTERNACIONAL, evidencia una posible acumulación en los frutos de papaya.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, M., ZHAO, F., MCGRATH, S., NICHOLSON, F. & B. CHAMBERS. 2004. Predicting cadmium concentrations in wheat and barley grain using soil properties. J. Environ. Qual. 33, 532–541.
- ADRIANO, D. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments : Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals/Domy C. Adriano. Springer, New York.
- ALCÁNTAR, G. G.; SANDOVAL, M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México. 156 p.
- ALEXANDER, L., MICHAL, M., MAREK, V. & J. PHILIP, J. W. 2010. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. J. Exp. Bot., Page 1 of 17.
- ALLOWAY, B. J. 2013. Sources of heavy metals and metalloids in soils. In Heavy metals in soils (pp. 11-50). Springer Netherlands.
- ARÉVALO, E., OBANDO, M., ZÚÑIGA, L., ARÉVALO, C., VIRUPAX, B. & H. ZHENLI. 2016. Metales pesados en suelos de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres regiones del Perú. Ecología Aplicada, 15(2), 81-8.
- BARCELÓ, J. (2003). Perspectivas actuales de la fitoremediación. Anuari Reial Academia de Farmacia de Catalunya. 47: 13-45.
- BARCELÓ, J.; NICOLAS, G.; SABATER, B.; SÁNCHEZ-TAM...S, R. (2001). Fisiología Vegetal, Ed.Pir·mide, Madrid.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, Ch. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. Contributions to science. 2: 333-344.

BARRAGÁN, O. 2008. Estudio de diferentes metodologías para determinar la biodisponibilidad de cadmio y arsénico en los suelos y su relación con la concentración en plantas. NOVA - Publicación Científica EN CIENCIAS BIOMÉDICAS - ISSN:1794-2470 Vol.6 No. 9 ENERO - JUNIO DE 2008:101-212.

BENAVIDES, M., GALLEGOS, S. & M. TOMARO. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz J Plant Physiol., 17:21–34.

BONOMELLI, C., BONILLA, C. & A. VALENZUELA. 2003. Efecto de la fertilización fosforada sobre el contenido de cadmio en cuatro suelos de Chile. Pesq. Aqrop. Bras. 38(10):1179-1186.

FLORES, C. 2008. Determinación de bioacumulación de plomo y cadmio mediante absorción atómica en *Alyssum murale*, *Tecoma stans* y *Nicotiana glauca* colectadas en la comunidad minera de Maconí. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Maestría en Ciencias ambientales. C.U. Santiago de Querétano. 2008.

GARCÍA, E., GARCÍA, E., JUÁREZ, L., MONTIEL, J. & M. GÓMEZ. 2012. La respuesta de haba (*Vicia faba*, L.) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio. Rev. Int. Contam. Ambie. 28 (2) 119-126, 2012.

HE, Z.L., XU, H.P., ZHU, Y.M., YANG, X.E. & G. CHEN. 2005. Adsorption-desorption characteristics of cadmium in variable charge soils. J. Environ. Sci. Health 40, 805-822.

HE, S., HE, Z., XIAO YANG, X., STOFFELLA, P. & V. BALIGAR. 2015. Soil Biogeochemistry, Plant Physiology, and Phytoremediation of Cadmium-Contaminated Soils. Chapter Four

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. 2001. Trace elements in soils and plants. Third edition. C.R.C. Press Boca Raton Florida, USA. 413 p.

KABATA-PENDIAS A.; MUKHERJEE, A. B. 2007. Trace elements from soil to human. Springer Berlin. 561 p.

McLaughlin, M., Zarcinas, B., Stevens, D. y Cook, N. (2000). Soil Testing for Heavy Metals. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 31 (11-14):1661-1700

Pla I. (1997). Metodología para la caracterización física con fines de diagnóstico de problemas de manejo y conservación de suelos en condiciones 209 tropicales. Curso de Postgrado en Ciencia del Suelo. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Maracay. 91 p

Wang, B., Xie, Z., Chen, J., Jiang, J. y Su, Q. (2008). Effects of field application of phosphate fertilizers on the availability and uptake of lead, zinc and cadmium by cabbage (*Brassica chinensis* L.) Journal of Environmental Sciences, 20:1109–1117.

Weber, W y Morris, J. (1963). Sanitary Eng. Div. Proceed. Am. Soc. Civil Eng., 89: 31.
Weber, W.J. (1972). Physicochemical Processes for Water Quality Control. 1ª ed., Editorial Wiley Interscience. USA.

Wen, D.; Ho, Y.S. y Tang X. (2006). Comparative sorption kinetic studies of ammonium onto zeolite. Journal of Hazardous Materials, B133: 252-256.

ANEXOS



Anexo 1.. Establecimiento de las plantas de acuerdo a los diferentes tratamientos aplicados.



Anexo 2. Trasplante de plántulas de *Carica papaya*.



Anexo 3. Etiquetado y adición de metal.



Anexo 4. Uso del software Image J como herramienta de medición de área foliar.



Anexo 5. Determinación de Cd mediante espectrofotetría de absorción atómica.

