

Germinación del girasol (*Helianthus annuus*) bajo diferentes concentraciones de metales

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) germination under several metal concentrations

L.R. Gutiérrez-Espinoza¹, M.T. Alarcón-Herrera², D. E. Prado-Tarango¹, M. E. Cedillo-Alcantar¹, A. Melgoza-Castillo¹, J.A.Ortega-Gutiérrez¹

¹Fac. De Zootecnia, UACH, Perif. Fco. R. Almada Km. 1, C.P. 31453 Chihuahua, Chih. (614) 343-0304, p42113@uach.mx ²CIMAV

Key words: Sunflower, *Helianthus annuus*, phytoremediation, semilla

RESUMEN

La fitorremediación es una práctica que se vuelve día a día cada vez más importante para eliminar los contaminantes del suelo y agua. Las plantas nativas tienen potencial para ser usadas en las prácticas de fitorremediación y dentro de estas está el girasol (*Helianthus annuus* L.). Sin embargo, la mayoría de los estudios de esta especie se han centrado en plantas adultas y no en semillas. El objetivo de este estudio fue evaluar si las semillas de girasol pueden germinar bajo diferentes niveles de metales. Los niveles de tratamiento fueron soluciones acuosas a 0, 25, 50, 100, 200, y 400 ppm de Cd (NO₂)³ y Pb (NO₂)³; 0, 12.5, 25, 50, 100 y 200 de Cr (NO₂)³, y 0, 50, 100, 200, 400, y 600 de Ni (NO₂)³. Para cada tratamiento, se colocaron 50 semillas por recipiente con cuatro repeticiones para cada una. El sustrato utilizado fue algodón y papel filtro regado con una solución conteniendo los diferentes tratamientos. No se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) como resultado de los tratamientos. En general, la germinación fue baja (media ponderada de 19.18%±1.8) incluso para el control; esto puede ser debido a la calidad de la semilla. Si bien los resultados no demuestran que la semilla absorbe los metales, la semilla pudo germinar en todos los niveles de tratamiento utilizados. Estos resultados son importantes ya que muestran que esta especie pudiera ser sembrada directamente en áreas contaminadas.

Abstract

Phytoremediation is a practice that becomes more important when removes contaminants, such as metals, from soil and water. Native plants have the potential to be explored for phytoremediation practices. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is a native plant used in phytoremediation, but most of the studies for this species have focused on adult plants rather than seed. The objective of this study was to evaluate if sunflower seeds could germinate at different levels of Cd, Pb, Cr, and Ni. Treatment levels were 0, 25, 50, 100, 200, and 400 ppm of Cd (NO₂)³, Pb (NO₂)³, and CdCl₂; 0, 12.5, 25, 50, 100, and 200 of Cr (NO₂)³; and 0, 50, 100, 200, 400, and 600 of Ni (NO₂)³, dissolved in water. For each treatment, four replications with 50 seeds each were placed in a container. The substrate used was cotton and filter paper soaked with a solution of the different treatment levels. No significant differences (P<0.05) were found as a result of treatments. Although germination was low (19.2% ± 1.8). Even at the control and seed quality may be the reason for the low germination values. An important fact in this study is that sunflower seeds could stand the solutions of metals tested and can germinate at high levels of soil contamination.

INTRODUCCION

Es un hecho que la sociedad puede hacer cambios en su estilo de vida con el fin de detener la contaminación del ecosistema, pero también es importante la búsqueda de soluciones a este problema. La contaminación con metales puede ser tratada mediante diferentes medios donde la fitorremediación es uno de ellos (Kumar *et al.*, 1995; Lasat, 1998; Lasat, 2002). La recuperación exitosa de un ecosistema contaminado por metales pesados requiere de información ecológica básica que permita desarrollar estrategias útiles para revertir el deterioro de los ecosistemas. Hasta hace poco tiempo una de las formas más comunes para la recuperación de estas áreas con algún grado de deterioro consistía, en el retiro de la capa de suelo contaminado a un sitio de confinamiento, o el uso de procesos químicos costosos, presentándose el riesgo de la contaminación de los mantos freáticos por lixiviación y en caso de establecer la cubierta vegetal con especies comerciales, generalmente es con especies exóticas. El uso de estas especies se debe básicamente a que son de fácil adquisición y propagación, sin embargo su utilización produce efectos desfavorables ya que pueden convertirse en malezas desplazando a las especies nativas, plantas y animales (Segura, 2005; Espinosa-García, 1996).

La flora local del estado de Chihuahua presenta un gran número de especies nativas de importancia económica y un potencial que debe utilizarse para fitorremediación (Núñez-Montoya *et al.*, 2007; Melgoza *et al.*, 2007). A pesar de que México ocupa el 4^o lugar mundial en biodiversidad vegetal con un 40% de endemismos, la flora Mexicana está muy poco estudiada en cuanto a su capacidad para identificar las plantas resistentes, acumuladoras e hiperacumuladoras de contaminantes (Baker *et al.*, 2000).

En los estudios con plantas, las concentraciones $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ son conocidos para Ni en más de 320 especies, Co en 30 especies, Cu en 34 especies, Se 20 en especies, Pb en 14 especies y Cd en una especie, concentraciones superiores a $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ se ha

registrado para el Zn en 11 especies y Mn en 10 especies. El umbral de los niveles de hiperacumulación de estos elementos se han tenido que modificar a un estándar mayor, debido a que el rango normal en las plantas (20 - 500 mg kg⁻¹) son mucho más elevados que para los otros metales pesados (Reeves y Baker, 2003). Existen plantas que al mismo tiempo que son hiperacumuladoras de cobre, lo son del cobalto, entre ellas algunas especies de la familia Asteraceae (Brooks 1998). El género *Helianthus* comprende 51 especies y 19 subespecies con 14 anual y 37 especies perennes (Schilling y Heiser, 1981). La estrecha base genética del girasol cultivado se ha ido ampliando por la inclusión de genes de especies silvestres (Thompson *et al.*, 1981; Seiler, 1992; Seiler y Rieseberg, 1997). Esto las hacen más tolerantes en algunos aspectos o les proporciona características específicas como especie fitorremediadora de ambientes contaminados (Xiong, 1997). Otro efecto beneficioso del girasol está en la capacidad radicular, la cual es profunda y permite la extracción de metales a profundidades no alcanzadas por otras plantas (Unger, 1990). Munn *et al.* (2008) informó que el girasol puede extraer del 10 al 25% de la contaminación por metales del suelo, porque estas plantas no son fácilmente afectadas por la contaminación. Los niveles de crecimiento de esta especie en medios contaminados fueron superiores a los niveles de crecimiento de plantas que crecen bajo condiciones no contaminadas (Mani *et al.*, 2007). Es la especie que absorbe los metales pesados en mayor cantidad acumulándose más en raíces que en brotes, por lo que se considera una planta hiperacumuladora favorable en la fitoextracción de Cd, Zn, Pb y elementos radiactivos (Christie *et al.*, 2004; Reeves, 2003; Davies, 2002; Cabrera *et al.*, 1999; Simon, 1998; Kumar *et al.*, 1995). Es hiperacumuladora de una variedad de metales pesados como Cr (III), Cr (IV), (Davies, 2002; Davies *et al.*, 2001), de As, Bi, Cd, Cu, Mn, Pb, Sb, Ti y Zn (Christie *et al.*, 2004; Cabrera *et al.*, 1999). Sobre el girasol también se han efectuado experimentos para probar los niveles de

absorción de contaminantes radioactivos U, Ra, I, Sr, Cs y Pu (Rodríguez *et al.*, 2006; Soudek *et al.*, 2006; Soudek *et al.*, 2004), estudios fisiológicos de absorción a nivel radicular (Soudek *et al.*, 2006; Marmioli *et al.*, 2005; Clemens *et al.*, 2002; Davies *Et al.*, 2001), absorción en sistemas hidropónicos y en sitios tratados con lodos de plantas depuradoras (Soudek *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2004; Medejon *et al.*, 2003), absorción asistida con sustancias quelantes para metales traza específicos (Sistani *et al.*, 2006).

Actualmente se realizan estudios específicos, utilizando técnicas avanzadas de tecnología, para dar seguimiento a los efectos oxireductivos de los metales pesados a nivel celular y de sistemas, analizando daños específicos o alteraciones moleculares (Gong *et al.*, 2005a; Gong *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2004). Sierra. (2006), utilizando plántulas de girasol para la fitorremediación de suelos contaminados con altos niveles de plomo, reportó la recuperación de suelos contaminados. López. (2002), trabajando con ácidos húmicos y semillas de girasol ornamental, reportó la acumulación de hasta 1000 mg kg⁻¹ de Pb. Pineda. (2004), trabajando con hongos micorrízicos arbusculares y plantas de girasol inoculadas, reporta la extracción de zinc y cobre, hasta 105-125ppm respectivamente. La mayoría de los estudios con esta especie se han efectuado usando el trasplante de especímenes adultos a sustratos contaminados en vez de probar directamente las semillas en el suelo. Es importante probar la respuesta de las semillas a diferentes niveles de contaminación por metales, porque es más fácil dispersar las semillas de girasol, que trasplantar individuos adultos en suelos contaminados. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es, probar la tolerancia de la germinación de la semilla de girasol a diferentes niveles de concentración de metales contaminantes del suelo.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en los meses de marzo a abril del 2009 en el invernadero de la Facultad de Zootecnia y Ecología UACH. Las semillas de girasol (*Helianthus annuus* L) fueron recolectadas en las inmediaciones de la ciudad de Chihuahua. Se usaron lotes de 50 semillas por tratamiento, dando un total de 100 recipientes para probar 5 niveles de solución de nitratos de cadmio, plomo, cromo y níquel, contra muestras de semilla regadas con agua tridestilada. Se establecieron cuatro repeticiones para cada uno de los cinco tratamientos y el testigo en dos temporadas. Las dosis medias de los tratamientos fueron los parámetros que señala la NOM 1994 para agua modificada en el 2004. Las semillas fueron desinfectadas superficialmente por inmersión en alcohol al 70% por un minuto, a continuación sumergidas en hipoclorito de sodio al 10% por quince minutos para posteriormente ser enjuagadas ocho veces en agua destilada (Duncan y Howard, 2000; Zhu *et al.*, 2000). Cada grupo de 50 semillas fue depositado en un recipiente de polietileno transparente de 0.5 l esterilizado para evitar la presencia de microorganismos que pudieran alterar los resultados. Como cama de siembra fue usado un sustrato neutro inocuo consistente en papel absorbente en el fondo y fibras de algodón esterilizado en greña como colchón, sobre las cuales fueron depositadas las semillas. Cada grupo de semillas fue humedecido por inmersión en la solución seleccionada del tratamiento correspondiente por un periodo de 30 minutos y depositado en el recipiente, el cual fue adicionado con 100 ml de la solución metálica acuosa (tratamiento o control) y finalmente cerrado herméticamente. Las soluciones utilizadas fueron 0.025 0.05 0.1 0.2 y 0.4 para $\text{Cd}(\text{NO}_2)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Pb}(\text{NO}_2)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.0125 0.025 0.05 0.1 y 0.2 para $\text{Cr}(\text{NO}_2)_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.05 0.1 0.2 0.4 y 0.6 para $\text{Ni}(\text{NO}_2)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, por un periodo de dos meses (60 días) sin riego adicional, anotando las observaciones de la germinación de las semillas en cada uno de los tratamientos. Se consideró que una semilla germinó, si esta emite una radícula de al menos 2 mm de longitud (Carrillo-Castañeda *et al.*, 2002).

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente para determinar diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo. Se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System, 1990) y la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad para la obtención de los promedios, determinación del mejor tratamiento y análisis gráfico de normalidad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos probados (Cuadro 1). En todos los tratamientos y las dos temporadas se observó una baja tasa de germinación ($4.5\% \pm 4$ para el invierno y $19.2\% \pm 1.8$ para el verano con una media ponderada de $11.86\% \pm 6.6$ y un máximo de $22.5\% \pm$). Cuadro 2. Estos resultados contradicen los resultados de McBride *et al* (1981) y Eliot *et al.* (1986). Los cuales reportaron la baja movilidad relativa de los elementos siendo mayor para Cd que para Pb. Los resultados de McIntyre (2003) señalan que el girasol es acumulador de Cs, U, Pb y Sr, mientras que los resultados de este trabajo indican que es tolerante a Cd, Ni, Cr y Pb. También los resultados de este trabajo difieren con los obtenidos por Sierra (2006), el cual encontró que el girasol no soporta concentraciones de 200 ppm de plomo. Los estudios de Bonomelli *et al.* (2001). Los cuales indican que la transferencia de Cd es mayor que para los otros elementos y el Pb posee un riesgo muy bajo de acumularse en concentraciones tóxicas en los cultivos para alimentación humana. El crecimiento de las plántulas es más afectado por Cd seguido de Hg y luego Pb (Hsu y Chou, 1992). Además, Mazzarino (1999) observó que en suelos muy ácidos aumenta la biodisponibilidad de Cd, mientras que el Pb no es absorbido significativamente por las plantas a ningún cambio de pH.

La germinación de semillas en el control fue de 60.14% más probable a que ocurriera en Cd, 57.43% más probable que en Pb, 41.22% más probable que en Cr y 25.68% más probable que en Ni, la germinación de semillas en Ni es 46.36% más probable que en Cd, 42.73% más probable que en Pb y 20.91% más probable que en Cr, la germinación de semillas en Cr es 32.18% más probable que en Cd, y 27.59% más probable que en Pb y la germinación de semillas en Pb es 6.35% más probable que en Cd.

En el análisis de contrastes, el comportamiento de los tratamientos de Cd presenta una ligera tendencia cubica ($Pr > F=0.7286$) y cuartica ($Pr > F=0.8955$), El Cr presenta una tendencia lineal ($Pr > F=1.000$) y una ligera tendencia cuartica ($Pr > F=0.8809$). El Ni presenta una ligera tendencia lineal ($Pr > F=0.8452$) y una ligera tendencia cuartica ($Pr > F=0.8826$). Estos comportamientos indican las tendencias que se observan en los resultados en cuanto a la proyección de sus puntos y al efecto unidimensional ocasionado solo por ese elemento. La tendencia cubica ajusta la presentación de los datos a una forma bidimensional e indica que otro factor está interfiriendo con su comportamiento. El modelo cuartico, indica que los datos se distribuyen, de una forma tridimensional y que son varios los factores que están interfiriendo o afectando la interpretación de su comportamiento en el resultado (Grafica 1). Una tendencia lineal se ajusta a una ecuación $y = a + bx$ donde a corresponde a la cantidad inicial del tratamiento probado de metales pesados y b a la resistencia inicial a la absorción del metal aplicado en solución. Una tendencia cuadrática se ajusta a una ecuación $y = a + bx + cx^2$, donde a corresponde a la cantidad inicial del tratamiento probado de metales pesados y b a la resistencia inicial a la absorción del metal aplicado en solución. Y c corresponde al factor que modifica la relación desde la linealidad.

Cuadro 1. Parámetros de las medias de los tratamientos de metales sobre la germinación de semillas de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L)

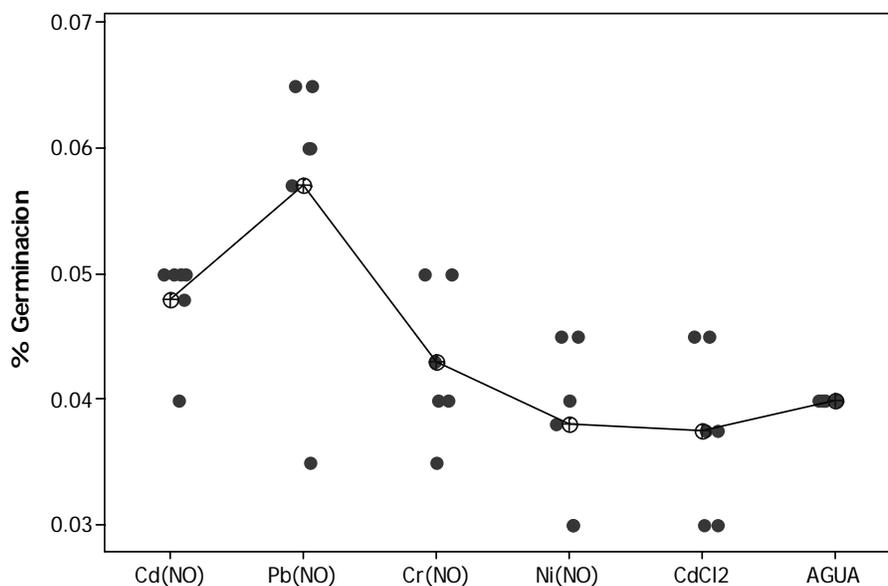
Variables	Suma de Cuadrados	Cuadrado de las Medias	F-Valor	Pr>F
-----------	-------------------	------------------------	---------	------

$Cd(NO_3)_2$	0.00032	0.00008	0.25	0.9052
$Pb(NO_3)_2$	0.00252	0.00063	1.66	0.2118
$Cr(NO_3)_2$	0.00072	0.00018	0.33	0.8566
$Ni(NO_3)_2$	0.00092	0.00023	0.91	0.4843

Datos transformados entre el número de semillas del lote

Cuadro 2. Respuesta de las semillas de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) bajo diferente nivel de metales en solución acuosa.

Tratamiento	Cd	Pb	Cr	Ni	Media	DS
0	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	0
1	14	19.5	20.5	15.5	17.375	2.70127
2	19	15	18	21	18.25	2.16506
3	20	14	19.5	22	18.875	2.96595
4	16	20.5	24.5	29	22.5	4.80885
5	16	18	21.5	23	19.625	2.76981
Media	17.25	17.5833	20.4167	21.5	19.1875	*
DS	2.2749	2.5577	2.3752	4.5607		1.79766



Gráfica 1 Porcentaje de germinación y tendencia para $Cd(NO_2)_3$, $Pb(NO_2)_3$, $Cr(NO_2)_3$, $Ni(NO_2)_3$, $CdCl_2$ y el control.

Cuadro 3. Probabilidad conjunta de germinación de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*) entre metales durante la temporada otoñal

OTOÑO	Plomo Pb	Cadmio Cd	Cromo Cr	Niquel Ni	Agua T
-------	----------	-----------	----------	-----------	--------

Agua	43.86 %	33.33 %	25.58 %	15.79 %	1.00 %
Cadmio	33.33 %	1.00 %	0.0	0.0	0.0
Plomo	1.00 %	0.0	0.0	0.0	0.0
Cromo	24.56 %	10.42 %	1.00 %	0.0	0.0
Niquel	33.33 %	20.83 %	11.63 %	1.00 %	0.0

CONCLUSIONES

Aún y cuando la germinación de la semilla fue baja, es importante señalar que se observó germinación en todos los niveles de tratamientos de la prueba. Esto indica que no sólo los individuos adultos de girasol puede tolerar la contaminación por metales pasados, sino las semillas también pueden tolerar la contaminación metálica. Si bien estos resultados muestran tolerantes a las semillas mas no necesariamente que están absorbiendo los metales.

La baja tasa de germinación general observada podría ser el resultado de la baja viabilidad de las semillas en forma natural, lo cual se compensa con una alta producción de semillas (Harper, 1977). Otra causa puede ser el hecho de mantener cerrados herméticamente los recipientes, ya que con soluciones de nitratos y cloruros se ha informado que existe producción de gases que pueden afectar la germinación (Bohnert, *et al.*, 2008).

Existe el potencial para utilizar las semillas de girasol en los programas de fitoremediación. La difusión o dispersión de las semillas, en lugar de trasplantar las plantas adultas, pudiera ser apropiada para facilita la aplicación de prácticas de fitoremediación. Además, una mayor dosis de tolerancia a la contaminación por metales, debería ser probada en la continuidad de este estudio.

LITERATURA CITADA

- Assuncao, A.G.L., H. Schat, M.G.M. Aarts. 2003. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol.* 159:351-360.
- Baker, A.J.M., R.D. Reeves y Ch. Mel. 2000. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. En: *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water* (eds. Terry, N. y Bañuelos, G.), pp. 129-158, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- Baskin, J. y C. Baskin. 1998. *Seeds, ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. CA, USA.
- Brooks, R. 1998. Geobotany and hyperaccumulators. En: *plants that hyperaccumulate heavy metals*. Ed. Brooks, R. Cab International, Wallingford, pp. 54-94
- Brooks, R. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archeology, mineral exploration and phytomining*. CAB International. Oxon, U.K.
- Bohnert, H.J., H. Nguyen y N.G. Lewis. 2008. *Bioengineering and molecular biology of plant pathways.. Advances in plant biochemistry and molecular biology*. First edition. 1:108-122.
- Cabrera, F., L. Clemente, E. Díaz Barrientos, R. López y J. M. Murillo. 1999. Heavy metal pollution of soils affected by the Guadiamar toxic flood. *Sci Total Environ* 242: 117-29.
- Cabrera, F., J.M. Murillo, R. López. 1999. Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar spill. *The Science of the Total Environment*. 242: 281-292.
- Carrillo-Castañeda, O., J. Juárez Muñoz, J.R. Peralta-Videa, E. Gómez, M. Duarte-Gardea, K.J. Tiemann y J.L. Gardea-Torresdey. 2002. *Advances in Environmental Research*. 6: 391-399.
- Clemens, S. 2001 Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Plants*. 212, 475-486.
- Clemens, S., M. Palmgren, U. Kramer. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7: 309-315.
- Christie, P., X. Li. y B. Chen. 2004 Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*. 261: 209-217.
- Davies, Jr.F.T., J.D. Puryear, R.J. Newton, J.N. Egilla y J.A.S. Grossi. 2002. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Plant Physiology* .158: 777-786.
- De Oliveira, F., V.P. Maria y F. Narasimha. 1999. Feasible biotechnological and

- bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils. *Electronic Journal of Biotechnology*. 174: 20-34.
- Duncan, B.D. y G. Isaac. 2000. Ferns and allied plants of Victoria, Tasmania, and South Australia Melbourne University Press, Carlton, Victoria.137:154-168.
- Dushenkov, V.S., Y. Kapulnik. 2002. Phytofiltration of metals. In: I. Raskin y B.D. Ensley (Eds). *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*. John Wiley and Sons, Inc. New York. pp 89-106.
- Dushenkov, V.S., Y. Kapulnik, M. Blaylock, B. Sorochisky, I. Raskin y B. Ensley. 1997a. Phytoremediation: A novel approach to an old problem. In: D. L. Wise (Ed.). *Global environmental biotechnology*, Elsevier Science B.V. Amsterdam.
- Dushenkov, V.S., S. Vasudev, D. Kapulnik, Y. Gleba, D. Fleisher, D.K. Ting y C.B. Ensley. 1997b. Removal of uranium from water using terrestrial plants. *Environ. Sci. Technol.* 31: 3468-3474.
- Dushenkov, V.S., P.B.A. Nanda Kumar, H. Motto y I. Raskin. 1995. Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ. Sci. Technol.* 29:1239-1245.
- Espinosa-García M. Diagnóstico y manejo de la fertilización de cultivares de girasol. General Villegas(ed): Publicacion técnica. No. 33.
- Gong, Z.B.M., W.K. Alef, P. Li y Z. Qixing. 2006. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from manufactured gas plant-contaminated soils using sunflower oil: Laboratory column experiments. *Chemosphere* 62: 780-787.
- Gong, Z.B.M., W.K. Alef, y P. Li. 2005a. Influence of soil moisture on sunflower oil extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from a manufactured gas plant soil. *Science of the total environment* 343: 51-59.
- Gong, Z.B.M., W.K. Alef, B. M. Wilke y P. Li .2005b. Dissolution and removal of PAHs from a contaminated soil using sunflower oil. *Chemosphere* 58: 291-298.
- Harper, J.L. y J. White. 1977. *Population biology of plants*. London Academic Press. London. 893. pp
- INTA. 1998. General Villegas. Publicacion técnica. No. 22
- Kumar, P.B., V. Dushenkov, H. Motto y I. Raskin. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science y Technology*. 29:1232-1237.
- Lasat, M.M.1998. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil American Association of the Advancement of Science. *Environmental Science and Engineering Fellow*. 112: 1-33.
- Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*. 31:109-120.
- Lin, Y.M., R.L. Chaney, E.P. Brewer, J.S. Angle y J. Nelkin. 2003. Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel contaminated soils. *Environ. Scí. y Technol.* 37:1463-1468.
- López, C.R. 2002. Comportamiento de sustancias húmicas de diverso origen en la física de un suelo limo-arcilloso y en la fisiología del tomate. Tesis Doctoral en Sistemas de Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Buenavista. Saltillo, Coahuila.
- Madejon, P., J.M. Murillo, T. Maranon, F. Cabrera y M.A. Soriano. 2003. Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcollar mine spill. *The Science of the Total Environment* 307: 239-250.
- Mani, D., B. Sharma y C. Kumar. 2007. Phytoaccumulation, interaction, toxicity and remediation of cadmium from *Helianthus annuus* L. (sunflower). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 79:71-79.

- Marmiroli, M., G. Antonioli, E. Maestri y N. Marmiroli. 2005. Evidence of the involvement of plant lignocellulosic structure in the sequestration of Pb, an X ray spectroscopy based analysis. *Environ. Pollut.* 134: 217–227.
- McBride, M.B. 1981. Mobility and solubility of toxic metal and nutrients in soil fifteen years after sludge application. *Soil Science Volume* 162: 487-500.
- McIntyre, T., O.W. Purvis, D.E. Salt, H. Schat, F.J. Zhao y A.J.M. Baker. 2003. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential bio restoration and site remediation. *Rest. Ecol.* 12: 106-116.
- Melgoza-Castillo A., Ortega-Ochoa, C.R. Morales-Nieto, P. Jurado-Guerra, C. Velez-Sanchez-Verdin, M.H. Royo-Márquez, G. Quintana-Martínez, A. Lafón-Terrazas, M.T. Alarcón-Herrera, G. Bezanilla-Enríquez y C. Pinedo-Alvarez. 2007: Propagación de plantas nativas para la recuperación de áreas degradadas: opción para mejorar ecosistemas, 2007. *TECNOCENCIA Chihuahua* 1 (3):38-41
- Munn, J., M. January y T. Cutright. 2008. Greenhouse evaluation of EDTA effectiveness at enhancing Cd, Cr, and Ni uptake in *Helianthus annuus* and *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Soils and Sediments.* 8:116-122.
- Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Diario Oficial de la Federación 11 de Noviembre de 2005. Accesado el 27 de noviembre del 2008
- Núñez Montoya, O.G., M.T. Alarcón-Herrera, A. Melgoza-Castillo, F.A. Rodríguez-Almeida y M.H. Royo-Márquez. 2007. Evaluación de tres especies nativas del Desierto Chihuahuense para uso en fitorremediación. *Terra.* 25:35-41.
- Pineda, H.R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de glomus intraradices en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus Annuus* L.) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis para Obtener el Grado de Doctor en Ciencias. Universidad de Colima. Tecomán, Colima.
- Reeves, R. y A.J.M. Baker. 2003. Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant and Soil* 249: 57-65.
- Reeves, R.D. 2003. Metal-accumulating plants. In: Raskin I. and Ensley BD. (eds.). *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*, pp. 193-229.
- Reeves, R.D. y A.J.M. Baker. 2000. Metal accumulating plants. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*: pp.193-229. John Wiley and Sons Inc., New York, New York, USA.
- Rodríguez, P.B., F.V. Tome, M.P. Fernández y J.C. Lozano. 2006. Linearity assumption in soil to plant transfer factors of natural uranium and radium in *Helianthus annuus* L. *The Science of the Total Environment.* 361:1-7.
- Ruiz, J.M., R.M. Rivero y L. Romero. 2007. Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO³⁻ assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Journal of Environmental Management.* 83:207-212.
- Ruiz, J.M., R.M. Rivero y L. Romero. 2006. Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO₃ - assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Journal of Environmental Management.* 83: 207-212
- SAS. Institute. 1990. SAS. User's Guide: Statistics, 4th ed. SAS Inst. Cary, NC.
- Segura, R. 2005. Microbial model and salt stress tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13:121-138.
- Seiler, G.J. y M.E. Brothers. 2003. Exploration for wild *Helianthus anomalus* and *H.*

- deserticola* in the desert southwest USA. In: Proc. 25th Sunflower Research Workshop, Fargo, ND. 16-17 January. National Sunflower Assoc., Bismarck, ND.
http://www.sunflowernsa.com/research/research_workshop/documents/90.pdf.
Accesado el 27 de Noviembre del 2008
- Seiler, G.J. 1998. The potential use of wild *Helianthus* species for selection of low saturated fatty acids in sunflower oil. In: de Ron, A.M. (ed.). International Symposium on Breeding of Protein and Oil Crops. Eucarpia, Pontevedra, Spain. pp. 109-110
- Seiler, G. J. y L.H. Rieseberg. 1997. Systematics, origin, and germplasm resources of wild and domesticated sunflower. In: Schneiter, A.A. (ed.). Sunflower Technology and Production. Crop Science Society of America, Madison, WI. pp. 21-65.
- Seiler, G.J. 1994. Oil concentration and fatty acid composition of achenes of North American *Helianthus* (*Asteraceae*) species. *Econ. Bot.* 48:276-279.
- Seiler, G.J. 1993. Forage and tuber yields and digestibility of selected wild and cultivated genotypes of Jerusalem artichoke. *Agron. J.* 85:29-33.
- Seiler, G.J. 1992. Utilization of wild sunflower species for the improvement of cultivated sunflower. *Field Crops Res.* 30:195-230.
- Seiler, G.J., M.E. Carr y M.O. Bagby. 1991. Renewable resources from wild sunflowers (*Helianthus spp.*, *Asteraceae*). *Econ. Bot.* 45:4-15.
- Schilling, E.E. y C.B. Heiser. 1981. Infrageneric classification of *Helianthus* (*Compositae*). *Taxon.* 30:393-403.
- Sierra, V.R. 2006 Fitorremediación de un suelo contaminado con plomo por actividad industrial Tesis de Ingeniero agrícola ambiental. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Buenavista. Saltillo, Coahuila.
- Singh, S., R. Saxena, K. Pandey, K. Bhatt y S. Sinha. 2004. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. *Chemosphere* 57: 1663-1673.
- Simon, L. 1998. Cadmium accumulation and distribution in sunflower plant. *J. Plant Nutrition.* 21:341- 352.
- Sistani, K.R. y J.M. Novak. 2006. Trace metal accumulation, movement, and remediation in soils receiving animal manure. In: Prasad, M.N.V., Sajwan, K.S, and Ravi Naidu (eds.). Trace Elements in the Environment: Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation. pp. 689-706. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- Soudek, P., R. Tykva, R. Vankova y T. Vanek. 2006. Accumulation of radioiodine from aqueous solution by hydroponically cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Environmental and Experimental Botany* 57: 220-225.
- Soudek, P., R. Tykva y T. Vanek. 2004. Laboratory analyses of ¹³⁷Cs uptake by sunflower, reed and poplar. *Chemosphere* 55:1081-1087.
- Soudek, P., S. Valenova, Z. Vavrikova, y T. Vanek. 2006. ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr uptake by sunflower cultivated under hydroponic conditions. *Journal of Environmental Radioactivity*, 88: 236-250.
- Thompson, T.E., D.C. Zimmerman y C.E. Rogers. 1981. Wild *Helianthus* as a genetic resource. *Field Crops. Res.* 4:333-343
- Unger, P.W. 1990. Sunflower. In: Stewart, B. A.; Nielsen, D. R. (Ed.). Irrigation of agricultural crops. Madison: American Society of Agronomy. *J. Agronomy.* 30:775-794.

- Xiong, Z.T. 1997. Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus Oleraceus* L. *Environmental Pollution* 97: 275-279.
- Zhu, Y.G., P. Christie y A.S. Laidlaw. 2000. Uptake on Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. *Chemosphere* 42, 193-199.