

DISTRIBUCIÓN DE BIOMASA Y ACUMULACIÓN DE PLOMO EN CALABACITA (*Cucurbita pepo* L.) CULTIVADA EN SUELO CONTAMINADO

Floriberto Solís-Mendoza; Jaime Sahagún-Castellanos[†]; Clemente Villanueva-Verduzco;
María Teresa Colinas-León; María del Rosario García-Mateos.

Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Edo. México. MÉXICO. C. P. 56230.
Correo-e: jsahagunc@yahoo.com.mx ([†]Autor para correspondencia).

RESUMEN

Se estudió el efecto del suelo contaminado con plomo en el híbrido experimental de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) denominado 'Termo'. Se cultivó calabacita en bolsas negras de polietileno, a cielo abierto. Se evaluaron las variables distribución de la producción de biomasa, altura de planta, contenido de clorofila y acumulación de plomo en raíz, tallo, hoja, flor y fruto. Los tratamientos fueron 0, 65, 300 y 1000 ppm de plomo aplicado al suelo a través de $Pb(NO_3)_2$. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con seis repeticiones, y la unidad experimental fue una bolsa negra de polietileno con dos plantas. Las evaluaciones se hicieron 50 días después del trasplante para altura de planta y contenido de clorofila, y a los 52 días para peso fresco, peso seco y acumulación de plomo. Se observó que la altura de planta fue significativamente menor cuando se aplicó plomo a cualquier dosis. También se observó que la mayor acumulación de biomasa en raíz y tallo fue producida con la dosis 300 ppm y en fruto con 65 ppm de plomo, en tanto que la biomasa total y las unidades SPAD (clorofila) no resultaron afectadas. De las estructuras comestibles, la flor presentó una mayor acumulación del metal que el fruto. A bajas dosis de plomo, la flor fue la estructura que más lo acumuló. Esto sugiere que es conveniente evaluar el contenido de metales pesados en productos agrícolas para consumo humano, aun cuando provengan de suelos contaminados sin intención.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Pb, metales pesados, hortalizas, contaminación, *Cucurbita pepo* L.

BIOMASS DISTRIBUTION AND LEAD ACCUMULATION IN SQUASH (*Cucurbita pepo* L.) GROWN IN CONTAMINATED SOIL

ABSTRACT

The effect of lead-contaminated soil in hybrid squash "Termo" (*Cucurbita pepo* L.) was studied. The hybrid was grown in black polyethylene bags in the field. The variables evaluated were distribution of biomass production, plant height, chlorophyll content and lead accumulation in root, stem, leaf, flowers and fruits. The treatments were 0, 65, 300 and 1000 ppm lead applied to soil through $Pb(NO_3)_2$. The randomized complete block design with six replicates was used, and the experimental unit was a black polyethylene bag with two plants. Plant height and chlorophyll content evaluations were performed 50 days after transplantation, and fresh weight, dry weight and lead accumulation 52 days after transplantation. It was observed that plant height was significantly lower when lead was applied at any dose. The highest biomass accumulation in root and stem was produced with 300 ppm and in fruit with 65 ppm lead, while total biomass and SPAD units (chlorophyll) were not affected. In the case of edible structures, flowers had higher metal accumulation than fruits. Flowers showed the highest lead accumulation when lead doses were low. This suggests that it is appropriate to assess the content of heavy metals in agricultural products for human consumption, even when they come, supposedly, from uncontaminated soils.

ADDITIONAL KEYWORDS: Pb, heavy metals, vegetables, pollution, *Cucurbita pepo* L.

INTRODUCCIÓN

El constante incremento de la contaminación ambiental por compuestos químicos es uno de los problemas más importantes que amenazan a la humanidad. Además de los contaminantes de origen natural, el hombre produce anualmente más de 500 millones de toneladas de químicos que a través de los ciclos biogeoquímicos se acumulan en la biosfera. Entre los compuestos generados por el hombre están los metales pesados, y dentro de éstos, el plomo es uno de los más frecuentes en el aire, agua, suelo, plantas, animales y humanos (Kvesitadze *et al.*, 2006).

El plomo ha estado con la humanidad casi desde el comienzo de la civilización y ha sido “útil, sorprendente, impredecible, peligroso y mortal” (Emsley, 2005). La gran cantidad producida de este metal, su alto valor económico y el gran número de personas que se emplean en su extracción y transformación, hacen que sea un material extremadamente importante. Su uso tiene antecedentes cercanos al año 4000 a.C. (Casas y Sordo, 2006), y no obstante los riesgos que presenta, año con año aumenta la cantidad de metal utilizado.

Actualmente destaca el uso del plomo en la producción de acumuladores, elementos piezoeléctricos, pegamentos, vidrios, esmaltes, tintas, colorantes, lacas, protección contra rayos *Gamma*, y aditivo de gasolinas (en África, Medio Oriente, Asia y América Latina, excepto México, Brasil y Argentina). Es residuo importante en procesos de las industrias metalúrgica, química, farmacéutica, petroquímica y otras (Swaran *et al.*, 2006).

En el aire hay concentraciones de plomo cercanas a los $11 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, y su flujo anual de la atmósfera hacia los cuerpos de agua es de aproximadamente $0.817 \text{ kg}\cdot\text{km}^{-2}\cdot\text{año}^{-1}$, aunque esto depende del lugar (Hites, 2007). En suelo, el exceso de plomo disminuye la actividad microbiológica, aunque algunas especies de hongos microscópicos y bacterias son resistentes a compuestos de este metal. Los actinomicetos y bacterias que asimilan nitrógeno molecular son más sensibles al contaminante que otros grupos taxonómicos de microorganismos. Una concentración de plomo que disminuye la cosecha o la altura de planta en al menos 5 % se considera tóxica. Cuando el suelo contiene más de $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la concentración en cultivos agrícolas excede el nivel permisible (Kvesitadze *et al.*, 2006), y cuando excede los $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ requiere remediación obligada (USEPA, 1996).

En humanos, el 90 % del plomo se ingiere en los alimentos y del 60 al 70 % proviene de alimentos de origen vegetal. La concentración media en la sangre es menor que $10 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. Sin embargo, a $40 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ se afectan la conducta y el coeficiente intelectual; a $70 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ hay neuropatía periférica, y a una concentración mayor de $190 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ produce confusión y convulsiones (Hites, 2007), aunque son más frecuentes el saturnismo (envenenamiento crónico), anemia, lesión

INTRODUCTION

The continued increase in environmental pollution caused by chemical compounds is one of the most important problems that threaten humanity. Besides the natural pollutants, man produces over 500 million tons of chemicals that get accumulated in the biosphere through the biogeochemical cycles. Among the compounds generated by man we found heavy metals and within these, lead is one of the most frequent metals found in the air, water, soil, plants, animals and humans (Kvesitadze *et al.*, 2006).

Lead has been present, almost from the beginning of civilization and has been “useful, surprising, unpredictable, dangerous and deadly” (Emsley, 2005). The large amount of this metal produced, its high economic value and the large number of people employed in its extraction and processing, makes it an extremely important material. Its use has taken place since about 4,000 years BC (Casas and Sordo, 2006), and despite the risks, the amount of metal used increases every year.

Today, the use of lead in production of accumulators, piezoelectric elements, glues, glass, enamels, inks, dyes, lacquers, gamma-ray protection and gasoline additive (in Africa, Middle East, Asia and Latin America, except Mexico, Brazil and Argentina) stands out. It is an important residue in the processes of metallurgical, chemical, pharmaceutical, petrochemical and other industries (Swaran *et al.*, 2006).

In the air there are lead concentrations close to $11 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, and the annual flow of the atmosphere into bodies of water is about $0.817 \text{ kg}\cdot\text{km}^{-2}\cdot\text{year}^{-1}$, although this depends on the location (Hites, 2007). In soil, the excess of lead decreases the microbiological activity, although some species of microscopic fungi and bacteria are resistant to compounds of this metal. Actinomycetes and bacteria that take in molecular nitrogen are more sensitive to contaminants than other taxonomic groups of microorganisms. A concentration of lead that reduces the crop or plant height at least 5 % is considered toxic. When soils contain more than $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, the concentration in agricultural crops exceeds the permissible level (Kvesitadze *et al.*, 2006), and when it exceeds $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ remediation is required (USEPA, 1996).

In humans, 90 % of lead comes from the food that is ingested, of which 60 to 70 % comes from vegetables. The average concentration in blood is less than $10 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. However, at $40 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ behavior and IQ are affected; at $70 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ peripheral neuropathy occurs, and at a higher concentration of $190 \text{ }\mu\text{g}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ confusion and convulsions are produced (Hites, 2007), although lead poisoning (chronic poisoning), anemia, kidney damage, height reduction, impaired central and peripheral nervous system functions, suppression of protein synthesis, cell disruption of the genetic apparatus, intoxication of embryos and activation of oncological processes are most frequent (Cohen, 2001).

renal, reducción de la estatura, afectación de los sistemas nervioso central y periférico, supresión de la síntesis de proteínas, perturbación de las células del aparato genético, intoxicación de embriones y activación de procesos oncológicos (Cohen, 2001).

Las plantas también sufren los efectos de los contaminantes. Éstos penetran por raíz, tallo, hojas, floema y xilema. Los motores de combustión interna emiten partículas sólidas de compuestos de plomo (óxidos, cloruros, fluoruros, nitratos, sulfatos, etc.) junto con los gases liberados por el escape. Por ello, no es recomendable cultivar plantas, especialmente las de crecimiento rápido, cerca de carreteras (Kvesitadze *et al.*, 2006), ya que el plomo puede permanecer como residuo por 1,000 a 3,000 años en suelos de clima templado (Bowen, 1979).

El plomo es considerado un metal no esencial para los vegetales; no obstante, al estar presente en los suelos también es disponible para las plantas (Alloway, 1994). Algunos de los síntomas generales de toxicidad, aunque inespecíficos a este metal, son hojas más pequeñas y menor altura en el crecimiento. Las hojas pueden llegar a ser cloróticas y con necrosis de color rojizo, y las raíces pueden adquirir un color negro. Su fitotoxicidad es baja, como si estuvieran muy limitadas la disponibilidad y la absorción desde el suelo. Sin embargo, las raíces de las plantas pueden absorber y acumular grandes cantidades, pero la translocación hacia brotes aéreos es generalmente limitada debido a que se une a las superficies de la raíz y a las paredes celulares (Mehra y Farago, 1994). En plantas cultivadas en suelos con concentraciones superiores a las que normalmente se encuentran en terrenos agrícolas ($65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), se ha encontrado que se interfiere la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas, hay disminución en la biomasa y menor desarrollo de raíz, e inhibición de la biosíntesis de clorofila (Vangronsveld y Clijsters, 1994).

Con base en lo anterior, se planteó como objetivo evaluar la distribución de biomasa y la acumulación de plomo en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) cultivar 'Termo' en un sustrato contaminado con diferentes contenidos de plomo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en Acolman, Estado de México, ubicado a $19^\circ 36' \text{ LN}$ y $98^\circ 58' \text{ LO}$, y una altitud de 2,243 m. La siembra en charolas de germinación con suelo se hizo el 15 de agosto de 2007 y las plántulas se trasplantaron el 3 de septiembre, a cielo abierto. Se utilizó el híbrido experimental de calabacita 'Termo'. Se fertilizó con la fórmula 120-60-60, con una aplicación de fondo de 60-60-60 y una segunda aplicación de 60-00-00. La fuente de fertilizante fue 15-15-15. Como fuente contaminante se utilizó $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con seis repeticiones. La unidad experimental fue una bolsa negra de polietileno con capacidad de 5.67 litros, con dos plantas. Los tratamientos fueron cuatro do-

Plants also suffer the effects caused by pollutants. These pollutants enter through the root, stem, leaves, phloem and xylem. Internal combustion engines emit solid particles of lead compounds (oxides, chlorides, fluorides, nitrates, sulfates, etc.) along with gases released by the exhaust system. Therefore, it is not advisable to cultivate plants, especially those that grow fast, near roads (Kvesitadze *et al.*, 2006), because lead can remain as residue for 1,000 to 3,000 years in temperate soils (Bowen, 1979).

Lead is considered a nonessential metal for plants; however, when this metal is present in soils, it is also available for plants (Alloway, 1994). Some general symptoms of toxicity, although nonspecific to this metal, are smaller leaves and lower plant growth. Leaves can be chlorotic and with reddish necrosis, and roots may turn black. Its phytotoxicity is low, as if the availability and absorption from soil were very limited. However, roots can absorb and accumulate large quantities of this metal, but the translocation to aerial shoots is generally limited because it binds the surface of the root and the cell walls (Mehra and Farago, 1994). In plants grown in soils with concentrations above those normally found in agricultural land ($65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), it has been found that plant growth and photosynthesis are interfered, there is a decrease in biomass and less root development, and inhibition of the chlorophyll biosynthesis (Vangronsveld and Clijsters, 1994).

Based on the above, the aim of this study was to evaluate the biomass distribution and lead accumulation in squash (*Cucurbita pepo* L.) cultivar 'Thermo' in a contaminated growth medium with different levels of lead.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in Acolman, Estado de México, located at $19^\circ 36' \text{ N}$ and $98^\circ 58' \text{ W}$ and an altitude of 2,243 m. For seeding, germination trays with soil were used, this was performed on August 15, 2007 and seedlings were transplanted in the field on September 3. The hybrid squash 'Thermo' was used for this study. It was fertilized with the formula 120-60-60 with an application of 60-60-60 and a second application of 60-00-00. The fertilizer source was 15-15-15. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ was used as contaminant source. The randomized complete block design with six replicates was used. A black polyethylene bag with a capacity of 5.67 liters, with two plants was used as the experimental unit. Four lead treatments (0, 65, 300 and 1000 ppm) were employed, which were added to the bags filled with agricultural land. Dry weight yield of the structural components of the plant: root, stem, leaves, flowers (male and female) and fruits (tender), were assessed 52 days after transplanting according to Roberts *et al.* (1988). Plant height was measured in centimeters. Chlorophyll content was determined 50 days after transplantation using a SPAD 502 portable meter (Minolta, Spectrum Technologies Inc., Illinois, USA), as suggested by Gutiérrez *et al.* (1998) and Rodríguez *et al.* (1998). In the case of mature leaves of 12

sis de plomo (0, 65, 300 y 1000 ppm). Éstos fueron adicionados a las bolsas llenas con tierra agrícola. A los 52 días del trasplante (ddt) se evaluó el rendimiento en peso seco de los componentes estructurales de la planta: raíz, tallo, hojas, flores (masculinas y femeninas) y frutos (tiernos), de acuerdo con Roberts *et al.* (1988). Se midió la altura de planta (cm). El contenido de clorofila se determinó a los 50 ddt con el medidor portátil SPAD 502 (Minolta, Spectrum Technologies Inc., Illinois, USA), como lo sugieren Gutiérrez *et al.* (1998) y Rodríguez *et al.* (1998). En hojas maduras de 12 plantas por tratamiento se hicieron mediciones con el SPAD. Para analizar la concentración de plomo, las muestras se secaron a 65 °C durante 48 horas en una estufa eléctrica con circulación de aire forzado y posteriormente se molieron en un molino de cuchillas de acero inoxidable Thomas Willey Mill modelo ED-5 hasta pasar por malla del número 20 (Etchevers, 1988). Se tomaron 0.5 g del tejido seco y molido, y pesados en una balanza eléctrica Sartorius modelo BL610. Luego se colocó la muestra en un matraz de digestión y se adicionaron 10 mL de ácido nítrico concentrado, 2 mL de ácido sulfúrico y 1 mL de ácido perclórico. La mezcla reposó toda la noche y posteriormente se colocó en una estufa de digestión Lindenberg SB a 260 °C durante cinco horas, hasta que se obtuvo un extracto transparente y cristalino (digestado) con un volumen de 1.5 a 3 mL. Al extracto obtenido se le adicionó 10 mL de agua destilada, se agitó y después se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL utilizando un papel filtro (Whatman número 1) y se aforó (Alcántar y Sandoval, 1999). La concentración de Pb se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Chapman y Pratt, 1991) en un equipo SpectrAA 220 marca Varian, con lámpara Varian, registrando la absorbancia a una longitud de onda de 283.3 nm.

El análisis estadístico de los datos de cada variable consistió en un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$). Se usó el programa SAS versión 8.0 (SAS Institute, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acumulación de biomasa total

Los pesos secos promedio de la biomasa total no difirieron estadísticamente ($P \leq 0.05$, Cuadro 1); es decir, la acumulación de biomasa total no se afectó por las dosis de plomo estudiadas.

Acumulación de biomasa estructural

Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias de materia seca correspondientes a las cuatro dosis de plomo estudiadas en raíz, tallo, hoja y fruto (Cuadro 1). Las mayores acumulaciones de materia seca en raíz y tallo fueron producidas en suelo contaminado con 300 ppm de Pb y 65 ppm de Pb para la biomasa de fruto.

Globalmente, de las cinco evaluaciones, la mayor acumulación de materia seca se presentó en hoja. La bio-

plants per treatment measurements were taken using the SPAD. To analyze lead concentration, samples were dried at 65 °C during 48 hours in a forced-air circulation electric oven; subsequently, ground in a Thomas Willey Mill knife mill model ED-5 until the sample passed through a mesh (number 20) (Etchevers, 1988). 0.5 g dry and ground tissue were weighed on a Sartorius electro balance Model BL610. Then, the sample was placed in a digestion flask where 10 mL of concentrated nitric acid, 2 mL of sulfuric acid and 1 mL of perchloric acid were added. The mixture rested overnight and was placed in a Lindenberg SB digestion oven at 260 °C for five hours, until a clear and crystalline (digested) extract with a volume of 1.5 to 3 mL was obtained. Distilled water (10 mL) was added to the extract obtained, then it was stirred and transferred to a 25 mL volumetric flask using a filter paper (Whatman number 1) and gauged (Alcantar and Sandoval, 1999). Pb concentration was determined by atomic absorption spectrophotometry (Chapman and Pratt, 1991) using the Varian SpectrAA 220, with a Varian lamp, registering the absorbance at a wave length of 283.3 nm.

Statistical analysis of data for each variable consisted of an analysis of variance and a comparison test (Tukey, $P \leq 0.05$). The SAS program version 8.0 (SAS Institute, 1999) was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Total biomass accumulation

The average dry weight of the total biomass did not differ statistically ($P \leq 0.05$, Table 1); in other words, total biomass accumulation was not affected by the rate of lead.

Structural biomass accumulation

Significant differences ($P \leq 0.05$) between average dry matter content corresponding to the four doses of lead in root, stem, leaf and fruit (Table 1) were observed. The highest dry matter accumulation in root and stem were produced in contaminated soil with 300 ppm Pb and 65 ppm Pb for the fruit biomass.

The largest dry matter accumulation occurred in leaf, of the five assessments conducted. Biomass in flower did not differ in accumulation of dry matter due to the presence of metal.

Leaf was the structure with the largest accumulation of dry matter, in all cases, and tended to decrease when soil lead concentration increased. At 1000 mg·kg⁻¹ 20.3 g·plant⁻¹ were found, statistically lower only than what was found with 0 mg·kg⁻¹.

Biomass accumulation of agronomic interest

Flower and fruit are structures of agronomic interest, because they are part of the diet of many people, especially in central Mexico. Table 1 shows that the agronomic

CUADRO 1. Peso seco promedio de biomasa en calabacita 'Termo' cultivada en suelo contaminado con cuatro dosis de plomo.**TABLE 1. Biomass average dry weight of squash 'Termo' grown in contaminated soil with four lead doses.**

Pb (mg·kg ⁻¹)	Biomasa ^z total Total biomass ^z	Raíz Root	Tallo Stem	Hoja Leaf	Flor Flower	Fruto Fruit
	g-planta ⁻¹ / g-plant ⁻¹					
0	78.8 a	0.8 b	4.0 ab	27.8 a	4.7 a	6.0 b
65	87.8 a	0.7 b	3.2 b	24.4 ab	5.1 a	13.4 a
300	86.8 a	1.2 a	4.9 a	25.8 ab	5.1 a	5.1 b
1000	86.0 a	0.5 b	3.6 b	20.3 b	3.3 a	6.9 b
DSM/ LSD	15.7	0.3	1.1	6.6	2.2	2.4
CV (%)	11.1	25.8	16.7	16.2	28.5	43.6

^z Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$. DSM: diferencia significativa mínima. CV: coeficiente de variación.

^z Means with the same letter within columns are equal according to the Tukey test at $P \leq 0.05$. LSD: least significant difference. CV: coefficient of variation.

masa en flor no presentó diferencias en la acumulación de materia seca debido a la presencia del metal.

La hoja también fue la estructura que en todos los casos presentó la mayor acumulación de materia seca, y tendió a disminuir al aumentar la concentración de plomo en el suelo. A 1000 mg·kg⁻¹ se encontraron 20.3 g-planta⁻¹, estadísticamente inferior sólo al encontrado con 0 mg·kg⁻¹.

Acumulación de biomasa de interés agronómico

La flor y el fruto son estructuras de interés agronómico, ya que forman parte de la dieta alimenticia de muchas personas, especialmente en el centro de México. En el Cuadro 1 se observa que el rendimiento agronómico de flor no se afectó por la presencia de plomo en el suelo, ya que no hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$). No obstante, se observó que la acumulación de materia seca de flor tuvo una tendencia a decrecer conforme se incrementó la concentración de plomo en el suelo.

El fruto tierno tuvo una acumulación de materia seca con diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, y el mayor rendimiento (13.4 g. de materia seca por planta) se presentó en el tratamiento que incluyó 65 ppm de Pb (Cuadro 1). No obstante, a altas concentraciones del contaminante (1000 ppm de Pb) la materia seca acumulada por el fruto fue superior (14.3 %) a la del control.

Altura de planta

En altura de planta el testigo superó estadísticamente ($P \leq 0.05$) a las de los tres tratamientos restantes, cuyas medias no presentaron diferencias estadísticas (Cuadro 2). Esta variable se comportó como se esperaba, de acuerdo con lo que reporta Alloway (1994) al referirse a los síntomas de toxicidad por plomo.

performance of flowers was not affected by the presence of lead in soil, because no significant differences ($P \leq 0.05$) were observed. However, flower dry matter accumulation decreased when soil lead concentration increased.

Tender fruit had a dry matter accumulation with significant differences ($P \leq 0.05$) among treatments, and the highest yield (13.4 g dry matter per plant) was observed in the treatment with 65 ppm Pb (Table 1). However, when there were high concentrations of the contaminant (1000 ppm Pb) the accumulated dry matter per fruit was higher (14.3 %) than the control.

Plant height

The control treatment overcame statistically ($P \leq 0.05$) the three remaining treatments, whose averages were not statistically different (Table 2).

This variable behaved as expected, according to that reported by Alloway (1994) referring to the symptoms of lead toxicity.

Chlorophyll content

Average chlorophyll content, expressed as SPAD units, did not show significant differences ($P \leq 0.05$, Table 2). The results obtained for these variables differ from those obtained by Van Assche and Clijsters (1990), who found that heavy metals in soil, including lead, at high concentrations affect transpiration, respiration and photosynthesis, resulting in a lower biomass accumulation. While, according to Vangronsveld and Clijsters (1994), at low concentrations (65 ppm Pb or less) may show no visible adverse effects, although at cellular or molecular level several processes are affected due to the accumulation of this metal and its increment in local concentration. The absence of

CUADRO 2. Altura promedio de planta (cm) y contenido promedio de clorofila (unidades SPAD) en el híbrido de calabacita 'Termo' cultivado en suelo contaminado con cuatro dosis de plomo.

TABLE 2. Average plant height (cm) and average content of chlorophyll (SPAD units) of the hybrid squash 'Termo' grown in contaminated soil with four lead doses.

Pb (mg·kg ⁻¹)	Altura de planta (cm) Plant height (cm)	Contenido de clorofila (Unidades SPAD) Chlorophyll content (SPAD units)
0	27.0 a	36.9 a
65	19.0 b	40.2 a
300	17.1 b	39.4 a
1000	17.9 b	41.0 a
DSM	4.3	6.0
CV (%)	12.7	9.0

^a Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$. DSM: diferencia significativa mínima. CV: coeficiente de variación.

^b Means with the same letter within columns are equal according to the Tukey test at $P \leq 0.05$. LSD: least significant difference. CV: coefficient of variation.

Contenido de clorofila

Los contenidos medios de clorofila, expresados en unidades SPAD, no presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Cuadro 2). Los resultados obtenidos para estas variables difieren de los obtenidos por Van Assche y Clijsters (1990), quienes encontraron que los metales pesados en el suelo, entre ellos el plomo, cuando se encuentran a altas concentraciones afectan la transpiración, respiración y fotosíntesis, lo que resulta en una menor acumulación de biomasa. En tanto que, según Vangronsveld y Clijsters (1994), a bajas concentraciones (65 ppm de Pb o menos) pueden no presentar efectos visibles adversos, aunque a nivel celular o molecular varios procesos sean afectados por la acumulación del metal y su incremento en la concentración local. La ausencia de efectos del plomo puede deberse a que para el tiempo de evaluación éstos todavía no se manifestaban.

Acumulación de plomo en la biomasa

Biomasa total

La acumulación de plomo en la biomasa total presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Figura 1) entre las medias de los tratamientos, y una tendencia a una mayor acumulación del metal en la biomasa total conforme aumentó la concentración del mismo en el suelo.

Biomasa estructural

Excepto en fruto, hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre promedios de acumulación de plomo en las variables de biomasa estructural (raíz, tallo, hoja y flor) (Cuadro 3). La concentración estadísticamente superior ($P \leq 0.05$) correspondió a la dosis de plomo de 1,000 mg·kg⁻¹. Respecto a las diferencias entre las cinco variables, se observó que con las dosis de 0 y 65 mg·kg⁻¹ la flor presentó los valores más altos de acumulación del metal, en tanto que el fruto, en esas concentraciones, acumuló más plomo que la raíz. En general, la acumulación de plomo tendió a

lead effects can be because at the time of evaluation these effects have not occurred yet.

Lead accumulation in biomass

Total biomass

The accumulation of lead in total biomass showed significant differences ($P \leq 0.05$, Figure 1) among treatment means, and a greater accumulation of this metal in total biomass when the concentration of this metal in soil increased.

Structural biomass

Significant differences ($P \leq 0.05$) between average accumulation of lead in structural biomass variables (root, stem, leaf and flower) were observed, except for fruit (Table 3). The statistically highest concentration ($P \leq 0.05$) corresponded to the 1,000 mg·kg⁻¹ lead dose. About the differences between the five variables, it was observed that with dose 0 and 65 mg·kg⁻¹, flowers showed the highest values of metal accumulation, while fruits at these concentrations, accumulated more lead than the root. In general, lead accumulation tended to increase when the metal concentration in soil increased, and with the dose 1,000 mg·kg⁻¹, the plant showed a decreasing trend in lead accumulation in the form: root > stem > leaf > flower > fruit (Table 3).

In edible structures, flowers had a higher accumulation of lead than tender fruits. Flowers had the highest lead accumulation with the concentration of 65 ppm Pb and the control. With the same concentrations, the accumulation of this metal in flowers and fruits was higher than in root. The different structures accumulated more lead when the metal concentration in soil increased.

The results obtained showed a trend contrary to that reported by the literature, which may be because in squash plant grown in lead-contaminated soil, one or more of the following answers to stress were activated: a) masking ef-

aumentar conforme incrementó la concentración del metal en el suelo, y en la dosis de 1,000 mg·kg⁻¹, la planta presentó una tendencia decreciente en la acumulación de plomo de la forma: raíz > tallo > hoja > flor > fruto (Cuadro 3).

En estructuras comestibles, la flor presentó una mayor acumulación de plomo que el fruto tierno. A la concentración de 65 ppm de Pb y en el control, la flor fue la estructura que más plomo acumuló y, a las mismas concentraciones, la acumulación del metal en flor y en fruto fue mayor que en raíz. Las diferentes estructuras acumularon más plomo conforme aumentó la concentración del metal en el suelo.

Los resultados obtenidos presentaron una tendencia contraria a la que reporta la literatura, lo que pudo deberse a que en la planta de calabacita, cultivada en suelo contaminado con plomo, se activó una o más de las siguientes respuestas al estrés: a) enmascaramiento del efecto del metal por la inducción de enzimas de efecto indirecto (peroxidasas, catalasas, eterasas), b) activación de mecanismos de defensa que evitan la interacción del metal y su sitio de acción (unión del metal a paredes celulares, traslocación a compartimentos como vacuola, o captura en citoplasma por fitoquelatinas), o c) contraataque al proceso de daño por el metal (moléculas antioxidantes como el glutatión, ácido ascórbico, α -tocoferol, hidroquinonas, β -carotenos, flavonoides) (Van Assche y Clijsters, 1990; Vangronsveld y Clijsters, 1994; Mehra y Farago, 1994; Hall, 2002).

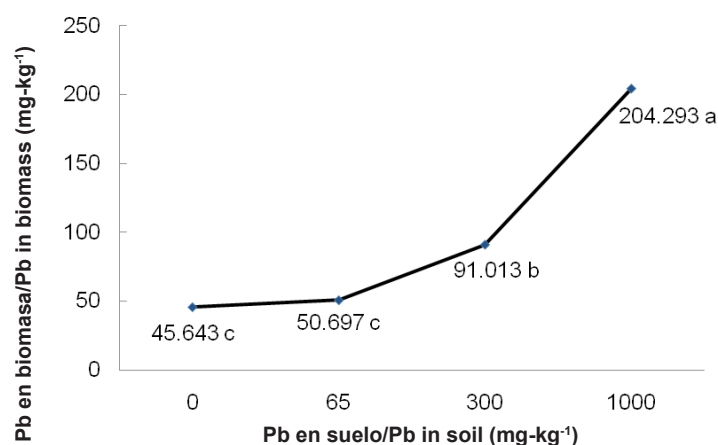
La acumulación de plomo en flor y fruto tiende a aumentar conforme aumenta el contenido de este metal en el suelo. Esto es explicable por: a) el sistema vascular tan desarrollado de la calabaza (cantidad y diámetro) derivado de sus hojas grandes con mucha área foliar, y b) la gran variedad de transportadores de metales presentes en las

effect of the metal by the induction of indirect effect enzymes (peroxidases, catalases, eterasas), b) activation of defense mechanisms that prevent the interaction of the metal and its site of action (metal binding to cell walls, translocations to compartments such as vacuole, or capture in cytoplasm by phytochelatinas), or c) counteract the process of metal damage (antioxidant molecules such as glutathione, ascorbic acid, α -tocopherol, hydroquinone, β -carotene, flavonoids) (Van Assche and Clijsters, 1990; Vangronsveld and Clijsters, 1994; Mehra and Farago, 1994; Hall, 2002).

The accumulation of lead in flower and fruit tends to increase when the content of this metal in soil increases. This is explained by: a) the highly developed vascular system of squash (number and diameter) derived from very large leaves with very large leaf area, b) due to the great variety of metals transporters present in the plants, such as ABC transporters (ATP-binding cassette), Nramps (Natural resistance associates macrophage proteins), the CDF families (Cation diffusion facilitator), ZIP (ZRT, IRT-like proteins), and cation antiporters (Hall and Williams, 2003; Lee *et al.*, 2005).

CONCLUSIONS

Lead applied to soil with squash plants reduced the height of the plant when the metal concentration increased, and produced the highest concentrations of biomass in root and stem with 300 ppm Pb and in fruit with 65 ppm Pb. However, in total biomass and flower, and chlorophyll content, no statistically significant differences ($P \leq 0.05$) were found. The accumulation of lead in total biomass and in the different organs of the plant increased when the content of metal in soil increased.



^z Medias con la misma letra, son iguales (Turkey, $P \leq 0.05$). Diferencia significativa mínima = 35.334. Coeficiente de variación = 12.7.

^z Means with the same letter within columns are equal according to the Tukey test at $P \leq 0.05$. LSD = 35.334. Coefficient of variation = 12.7.

FIGURA 1. Acumulación de plomo en biomasa total de calabacita cultivada en suelo contaminado.

FIGURE 1. Lead accumulation in squash total biomass grown in contaminated soil.

CUADRO 3. Acumulación de plomo (mg·kg⁻¹) en biomasa estructural de calabacita (variedad Termo) cultivada en suelo contaminado.

TABLE 3. Lead accumulation (mg·kg⁻¹) in squash structural biomass (Termo variety) grown in contaminated soil.

Pb	Raíz ^z Root ^z	Tallo Stem	Hoja Leaf	Flor Flower	Fruto Fruit
(mg·kg ⁻¹)					
0	6.4 b	9.8 c	9.2 b	12.4 b	7.9 a
65	8.5 b	11.7 bc	9.3 b	12.2 b	9.0 a
300	38.9 b	17.2 b	10.5 b	14.5 b	10.0 a
1000	93.6 a	48.3 a	28.5 a	24.5 a	9.4 a
DSM/ LSD	37.0	6.7	5.6	5.8	3.8
CV (%)	35.5	10.9	13.7	12.8	14.9

^z Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$. DSM: diferencia significativa mínima. CV: coeficiente de variación.

^z Means with the same letter within columns are equal according to the Tukey test at $P \leq 0.05$. LSD: least significant difference. CV: coefficient of variation.

plantas, como transportadores ABC (ATP-binding cassette), Nramps (Natural resistance associates macrophage proteins), las familias CDF (Cation difusión facilitator), ZIP (ZRT, IRT-like proteins), y antiporters de cationes (Hall y Williams, 2003; Lee *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

El plomo aplicado al suelo con plantas de calabacita redujo su altura conforme se incrementó la concentración del metal, y produjo las mayores concentraciones encontradas de biomasa en raíz y tallo con las concentraciones de 300 ppm de Pb y en fruto con la concentración 65 ppm de Pb. Sin embargo, en biomasa total y flor, así como el contenido de clorofila, no se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$). La acumulación de plomo en la biomasa total, así como en los diferentes órganos de la planta, aumentó conforme fue mayor el contenido del metal en el suelo.

En estructuras comestibles, la flor siempre mostró concentraciones de Pb más altas que el fruto, y con 1,000 ppm de Pb la flor fue la estructura que más metal acumuló. Por esto es conveniente determinar el contenido de Pb en la calabacita para consumo humano, aun si proviene de suelos supuestamente no contaminados.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada al primer autor para realizar estudios de doctorado, y a la Universidad Autónoma Chapingo.

LITERATURA CITADA

- ALCÁNTAR, G. G.; SANDOVAL V., M. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, Estado de México, México. 156 p.
- ALLOWAY, B. J. (ed.). 1994. Heavy Metals in Soils. Springer; 2nd edition, USA. 384 p.
- BOWEN, H. J. K. 1979. Environmental Chemistry of the Elements. Academic press, New York. 333 p.
- CASAS, J. S.; SORDO, J. 2006. An overview of the historical importance, occurrence isolation, properties and applications of lead. *In*: CASAS, J. S.; SORDO, J. (eds.). Lead Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impact and Health Effects. Elsevier, U.K. pp. 1-40.
- CHAPMAN, H. D.; PRATT, P. F. 1991. Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Agua. Editorial Trillas, S. A. de C. V., D. F., México. 195 p.
- COHEN, S. M. 2001. Lead poisoning: a summary of treatment and prevention. *Pediatric Nursing* 27: 125-130.
- EMSLEY, J. 2005. The Elements of Murder. Oxford university press, Oxford. 421 p.
- ETCHEVERS B., J. D. 1988. Manual de Métodos de Análisis de

In the case of edible structures, flowers always showed higher Pb concentrations than fruits, and with 1000 ppm Pb, the flower was the structure with greater accumulation of metal. Therefore it is desirable to determine the content of Pb in squash for human consumption, even if it comes from supposedly uncontaminated soil.

ACKNOWLEDGEMENTS

Acknowledgment to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), for the scholarship granted to the first author to perform doctoral studies, and to Universidad Autónoma Chapingo.

End of English Version

Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, México. 125 p.

- GUTIÉRREZ R., M.; SAN MIGUEL CH., R.; NAVA S., T.; LARQUÉ S., A. 1998. Métodos Avanzados en Fisiología Vegetal Experimental. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México. 119 p.
- HALL, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 366: 1-11.
- HALL, J. L.; WILLIAMS, L. E. 2003. Transition metal transporters in plants. *Journal of Experimental Botany* 393: 2601-2613.
- HITES, R. A. 2007. Elements of Environmental Chemistry. John Wiley & Sons, U.S.A. 204 p.
- KVESITADZE, G.; KHATISASHVILI, G.; SADUNISHVILI, T.; RAMSDEN, J. J. 2006. Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants. Basis of Phytoremediation. Springer-Verlag Berlin. Germany. 262 p.
- LEE, M.; LEE, K.; LEE, J.; NOH, E. W.; LEE, Y. 2005. AtPDR12 Contributes to lead resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology* 138: 827-836.
- MEHRA, A.; FARAGO, M. E. 1994. Metal Ions and Plant Nutrition. *In*: M. E. FARAGO (ed.) Plants and the Chemical Elements. Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany. pp. 31-66.
- ROBERTS, M. J.; LONG, S. P.; TIESZEN, L. L.; BEADLE, C. L. 1988. Medición de la Biomasa Vegetal y de la Producción Primaria Neta. *In*: J. COOMBS; HALL, S. O.; LONG, S. P.; SCURLOCK, J. M. O. (eds.). Técnicas de Fotosíntesis y Bio-productividad. Editorial Futura, Texcoco, México. pp. 1-16.
- RODRÍGUEZ M., M. N.; ALCANTAR G., G.; AGUILAR S., A.; ET-CHEVERS B., J. D.; SANTIZO R., J. A. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16: 135-141.
- SAS Institute. 1999. SAS/STAT. User's Guide. Version 8, Vol. 1-5. SAS Publishing. Cary, N.C. 3848 p.
- SWARAN, J. S. F.; GOVINDER, F.; GEETU, S. 2006. Environ-

- mental Occurrence, Health Effects and Management of Lead Poisoning, *In*: CASAS, J. S.; SORDO, J. (eds.). Lead Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impact and Health Effects. Elsevier, U.K. pp. 158-228.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1996. Soil Screening Guidance. Technical Background Document. U.S. Gov. Print. Office, Washington, D.C. USEPA Rep. 540/R-95/128.
- VAN ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell and Environment* 13:195-206.
- VANGRONSVELD, J.; CLIJSTERS, H. 1994. Toxic Effects of Metals. *In*: FARAGO, M. E. (ed.). Plants and the Chemical Elements. Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany. pp. 149-177.