

*Nota científica*

## **Germinación del girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) en presencia de diferentes concentraciones de metales**

L.R. Gutiérrez-Espinoza<sup>1</sup>, A. Melgoza-Castillo<sup>1</sup>, M.T. Alarcón-Herrera<sup>2\*</sup>, J.A. Ortega-Gutiérrez<sup>1</sup>, D.E. Prado-Tarango<sup>1</sup> y M.E. Cedillo-Alcantar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fac. De Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), Periférico Francisco R. Almada kilómetro 1, Chihuahua, Chih., México.

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial chihuahua, 31109, Chihuahua, Chih., México.

\* Autor de correspondencia: teresa.alarcon@cimav.edu.mx

### **Resumen**

La fitorremediación es una práctica que se vuelve día a día cada vez más importante para reducir los contaminantes del suelo y agua. Las plantas nativas tienen potencial para ser usadas en las prácticas de fitorremediación y dentro de éstas, 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 silvestre son capaces de germinar a altos niveles de concentración de metales. Los niveles de tratamiento fueron soluciones acuosas a 0, 25, 50, 100, 200, y 400 mg/L de Cd (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub> y Pb (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>; 0, 12.5, 25, 50, 100 y 200 mg/L de Cr (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, y 0, 50, 100, 200, 400, y 600 mg/L de Ni (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>. 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. El trabajo se llevó a cabo bajo condiciones de vivero. No se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) como resultado de los tratamientos. La germinación promedio de la semilla de girasol fue  $9.08\% \pm 0.78$  durante el periodo de verano-otoño y  $38.34\% \pm 3.0$  durante el periodo de primavera, incluso para el control. Ello debido posiblemente a una baja inusual de temperaturas registradas a finales de verano; además de que las plantas nativas presentan una gran variabilidad en la calidad de la semilla. Si bien los resultados no demuestran que la semilla absorbe los metales, la semilla germinó en todos los niveles de tratamiento utilizados. Estos resultados son importantes ya que muestran que esta especie silvestre pudiera ser sembrada directamente en áreas contaminadas en prácticas de fitorremediación.

**Palabras clave:** Girasol, *Helianthus annuus*, fitorremediación.

## Germination of wild sunflower (*Helianthus annuus* L.) in presence of different concentrations of metals

### Abstract

Phytoremediation is a practice that has become more important to reduce soil and water contaminants. Native plants have great potential in phytoremediation; one of such plants is the sunflower (*Helianthus annuus* L.). However, most studies related to this species have focused on adult plants, not seeds. The aim of this study was to assess whether wild sunflower seeds are able to germinate at high levels of metal concentration. Treatment levels were aqueous solutions at 0, 25, 50, 100, 200, and 400 mg /L of Cd (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub> and Pb (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>; 0, 12.5, 25, 50, 100 and 200 mg /L Cr (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub> and 0, 50, 100, 200, 400, and 600 mg / L of Ni (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>. For each treatment, 50 seeds were placed in a container with four repetitions for each. The used substrate was cotton and filter paper watered with each of the various treatments. The study was conducted under plant nursing conditions. There were no significant differences (P>0.05) as a result of the treatments. The average germination of sunflower seeds was 9.08% ± 0.78 during the summer-autumn and 38.34% ± 3.0 during the spring season, including the control. This could be due to unusual low temperatures registered at the end of the summer and also the high variations in seed quality of the wild plants. Although no seed absorption was quantified, results show that seeds germinated at all of the used treatment levels. These results are important because they show that this species could be seeded directly in contaminated areas where phytoremediation is required.

**Keywords:** Sunflower, *Helianthus annuus*, phytoremediation.

### 1. Introducción

Es un hecho que la sociedad puede hacer cambios en su estilo de vida con el fin de detener la contaminación del planeta, aunque también es importante la búsqueda de soluciones a este problema, ya presente. Una tecnología emergente en la remediación del medio ambiente es la fitorremediación, proceso que se refiere al uso de plantas para la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos (Baker *et al.*, 2000). Las plantas pueden extraer y acumular metales en la raíz, el tallo y las hojas, estabilizándolos mediante la formación de compuestos y/o confinándolos en la pared celular y vacuola, principalmente (Lasat, 2002; Hall, 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 consistía en retirar la capa de suelo contaminado a un sitio de confinamiento, o el uso de procesos químicos costosos. Esto representa un riesgo de contaminación de los mantos freáticos por lixiviación y altos costos de operación. Por otro lado, cuando se ha logrado implementar un programa de fitorremediación y se establece una cubierta vegetal, generalmente ha sido con especies comerciales y 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 (Segura, 2005). 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). De este potencial es importante determinar cuáles son tolerantes, acumuladoras e hiper-acumuladoras.

El criterio de planta hiperacumuladora ha cambiado a medida que más plantas son estudiadas (Baker et al., 2000; McGrath et al., 2002). Reeves y Baker (2003) reportaron plantas con concentraciones  $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$  para: Ni en más de 320 especies, Co en 30 especies, Cu en 34 especies, Se en 20 especies, Pb en 14 especies y Cd en una especie; concentraciones superiores a  $10,000 \text{ mg kg}^{-1}$  para Zn en 11 especies y Mn en 10 especies. También existen plantas que pueden hiperacumular diversos elementos contaminantes, no sólo uno (Brooks, 1998). Debido a que la gran mayoría de los estudios se han realizado con plantas adultas, queda por explorar el efecto tóxico de contaminantes metálicos sobre la germinación de semillas como indicador de tolerancia (Carrillo-Castañeda et al., 2002).

El girasol (*Helianthus annuus*) es una planta ampliamente reconocida como fitorremediadora y en la cual se han desarrollado diversos estudios de germinación. Munn et al. (2008) reportaron que el girasol, por su alta capacidad radicular puede extraer del 10 al 25% de los metales del suelo, ya que estas plantas no son fácilmente afectadas por los contaminantes. 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). Esta especie absorbe metales pesados en grandes cantidades por lo que se considera una planta hiperacumuladora para Cd, Zn, Pb y elementos radiactivos (Christie et al., 2004; Reeves, 2003; Davies et al., 2002). También se ha reportado como hiperacumuladora para Cr (III) y Cr (VI) (De la Rosa et al., 2008; Davies et al., 2002), de As, Bi, Cd, Cu, Mn, Pb, Sb, Ti

y Zn (Boonyapookana et al., 2006; Christie et al., 2004) y de contaminantes radioactivos (Rodríguez et al., 2006; Soudek et al., 2006; Soudek et al., 2004).

La mayoría de los estudios con girasol se han efectuado usando el trasplante de especímenes adultos a sustratos contaminados y con variedades comerciales (Davies, et al., 2002; Nehnevajova et al., 2005; Jerusa et al., 2006; Zou et al., 2008). Otros que han trabajado con germinación han utilizado semilla de variedades comerciales. En el trabajo de Ahmad et al., (2009), se reportó germinación en todos los niveles de Ni a los que se expuso la semilla. Sin embargo, todos estos estudios han sido reportados para especies comerciales. Por lo anterior, la presente investigación se enfocó a analizar la respuesta de semilla de poblaciones silvestres de girasol en sustratos contaminados con metales. El objetivo de este estudio fue probar la tolerancia de la germinación de la semilla de girasol silvestre a diferentes niveles de concentración de metales contaminantes del suelo.

## 2. Materiales y métodos

El trabajo se realizó en los meses de agosto-septiembre del 2008 y marzo abril del 2009 en el vivero de la Facultad de Zootecnia y Ecología UACH. Las semillas de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L) fueron recolectadas en las inmediaciones de la ciudad de Chihuahua. Las semillas fueron expuestas a los tratamientos: 0.0025, 0.005 0.01, 0.02, y 0.04 para Cd (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>.4H<sub>2</sub>O y Pb(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O; 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 y 0.02 para Cr(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>.7H<sub>2</sub>O y 0.005, 0.01, 0.02, 0.04 y 0.06 para Ni (NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. El criterio para seleccionar las concentraciones fue considerando los valores de los límites máximos de la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2004) como las dosis medias, y a partir de ésta se incluyeron dos dosis más altas. Se usaron

lotes de 50 semillas por tratamiento, cada uno con cinco repeticiones. Las semillas fueron desinfectadas superficialmente por inmersión en alcohol al 70% por un minuto y posteriormente en hipoclorito de sodio al 10% por quince minutos, finalizando con ocho enjuagues en agua destilada (Zhu *et al.*, 2000). Cada grupo de 50 semillas fue depositado en recipientes de polietileno transparente de 0.5 L esterilizado. Cada recipiente fue provisto de un sustrato de papel absorbente en el fondo y algodón sobre las cuales fueron depositadas las semillas. Antes de colocar las semillas, éstas fueron humedecidas por inmersión en la solución seleccionada del tratamiento correspondiente por un periodo de 30 minutos, además de que cada recipiente recibió 100 mL del tratamiento correspondiente para posteriormente ser cerrado herméticamente. Se consideró que una semilla germinó, cuando se observaba una radícula de al menos 2 mm de longitud (Carrillo-Castañeda *et al.*, 2002).

Con base en las 50 semillas y el número total de semillas germinadas se calculó el porcentaje de germinación. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con PROC GLM para probar el efecto de los tratamientos y la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 0.05 para comparación de medias (SAS, 1990).

### 3. Resultados y discusión

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en ninguna de las fechas de evaluación. La germinación promedio de la semilla de girasol fue de  $9.08\% \pm 0.78$  durante el periodo agosto-septiembre (Tabla 1) y de  $38.4\% \pm 3.0$  durante marzo-abril (Tabla 2). El incremento en la germinación probablemente se debió a las temperaturas más altas en el segundo periodo de evaluación. En el primer periodo las temperaturas fueron más bajas de

lo normal para esos meses, máxima 39 y mínima 5 °C; mientras que en el segundo periodo las temperaturas fueron de 45 la máxima y 13 °C la mínima. En otros estudios con diferentes niveles de concentración de meta-les tampoco se han reportado diferencias (Madrid *et al.*, 2003; Jamal *et al.*, 2006), pero si tendencias en la germinación al incrementar la dosis de tratamientos. Peralta *et al.* (2001) reportan incrementos de germinación a concentraciones de hasta 20 mg/L de níquel e inhibición a 40, 50 y 60 mg/L. Sin embargo, otros estudios señalan que a concentraciones mayores el níquel inhibe la germinación del girasol (Ahmad *et al.*, 2009; Valles *et al.*, 2008).

Los resultados muestran que el girasol pudo germinar a más altas concentraciones de Pb, ello comparado con las reportadas para otras especies (Madrid *et al.*, 2003; Azmat *et al.*, 2005; Shafiq y Iqbal, 2005; Sierra, 2006). También, se presentó germinación a mayores concentraciones que las reportadas para Cr (De la Rosa *et al.*, 2008; Guevara *et al.*, 2008). Munzuroglu (2006) observó un efecto negativo del cadmio en la germinación del girasol a concentraciones de 0,05, 0,07 y 0,09 mM. Dichos efectos no se observaron para cadmio en el presente estudio. Ello puede atribuirse a que la inhibición en la germinación de semillas de variedades diferentes, no solo depende de un parámetro único, sino que es un efecto sinérgico, debido a una serie de factores, presentes en el medio donde se desarrollan (Iannacone y Alvariño 2005; Lima *et al.*, 2004). La comparación de resultados con otros reportes es complicada para diferentes especies de plantas vasculares, al comparar especies nativas, introducidas, mejoradas o híbridas, tiempos de exposición y por las diferencias en las etapas de desarrollo cuando se evalúan (Rosa *et al.*, 1999; Arkhipchuk y Garanko, 2002).

**Tabla 1.** Porcentaje (%) de germinación de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L) bajo condiciones de vivero, en verano-otoño y diferente nivel de concentración de metales en solución acuosa.

| Cd y Pb<br>(mg/L) | Germinación |       | Cr<br>(mg/L) | Germinación |     | Ni<br>(mg/L) | Germinación |      | %<br>Germinación |
|-------------------|-------------|-------|--------------|-------------|-----|--------------|-------------|------|------------------|
|                   | Cd          | Pb    |              | Cr          | Ni  |              |             |      |                  |
| 0                 | 8           | 8     | 0            | 8           | 0   | 8            | 8           | 8    |                  |
| 25                | 8           | 13    | 12.5         | 7           | 50  | 6            | 9           | 9    |                  |
| 50                | 10          | 7     | 25           | 10          | 100 | 8            | 9           | 9    |                  |
| 100               | 10          | 12    | 50           | 10          | 200 | 9            | 10          | 10   |                  |
| 200               | 10          | 13    | 100          | 8           | 400 | 9            | 10          | 10   |                  |
| 400               | 10          | 12    | 200          | 8           | 600 | 6            | 9           | 9    |                  |
| <b>Media</b>      | 9.33        | 10.83 | -            | 8.5         | -   | 7.66         | 9.08        | 9.08 |                  |
| <b>DS</b>         | 0.516       | 1.32  | -            | 0.61        | -   | 0.68         | 0.78        | 0.78 |                  |

**Tabla 2.** Porcentaje (%) de germinación de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) bajo condiciones de vivero, en primavera y diferente nivel de concentración de metales en solución acuosa.

| Cd y Pb<br>(mg/L) | Germinación |      | Cr<br>(mg/L) | Germinación |     | Ni<br>(mg/L) | Germinación |       | %<br>Germinación |
|-------------------|-------------|------|--------------|-------------|-----|--------------|-------------|-------|------------------|
|                   | Cd          | Pb   |              | Cr          | Ni  |              |             |       |                  |
| 0                 | 37          | 37   | 0            | 37          | 0   | 37           | 37          | 37    |                  |
| 25                | 28          | 39   | 12.5         | 41          | 50  | 34.8         | 36          | 36    |                  |
| 50                | 38          | 30   | 25           | 36          | 100 | 36.5         | 35          | 35    |                  |
| 100               | 40          | 28   | 50           | 39          | 200 | 37.8         | 36          | 36    |                  |
| 200               | 32          | 41   | 100          | 49          | 400 | 45           | 42          | 42    |                  |
| 400               | 32          | 36   | 200          | 43          | 600 | 39.3         | 38          | 38    |                  |
| <b>Media</b>      | 34.5        | 35.2 | -            | 40.8        | -   | 43           | 38.34       | 38.34 |                  |
| <b>DS</b>         | 2.3         | 2.6  | -            | 2.4         | -   | 4.6          | 3.0         | 3.0   |                  |

#### 4. Conclusiones

Si bien no hubo diferencias entre tratamientos, dos aspectos de este estudio son relevantes:

1) Se trabajó con semilla silvestre de girasol, mientras que los trabajos publicados lo han hecho con semilla comercial.

2) Se obtuvo germinación a todos los niveles de concentración de los metales probados. Desafortunadamente, no fue posible analizar la absorción de los metales pesados por las semillas, pero indudablemente las sales

utilizadas presentan alta solubilidad en agua, lo que aseguró la disponibilidad del metal para la semilla. Esto indica que no sólo los individuos adultos de girasol pueden tolerar la contaminación por metales pesados, sino que también abre la posibilidad de utilizar semillas silvestres para su siembra en lugares contaminados.

Se encontró tolerancias a más altas concentraciones que las reportadas en la literatura para los metales analizados (Ni, Cr, Pb y Cd). Un aspecto importante de incluir en futuras pruebas de germinación de este

tipo, es la determinación del contenido de metales en las semillas y/o plántulas, una vez germinadas. Los resultados son una sólida evidencia de que el girasol silvestre puede ser sembrado directamente en los programas de fitorremediación.

## 5. Referencias

- Ahmad, M.S.A., M. Hussain, M. Asharfi, R. Ahmed y M.Y. Ashraf. 2009. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Pak. J Bot* 41: 1871-1882.
- Arkipchuk, V.V. y N.N. Garanko. 2002. A novel nucleolar biomarker in plant and animal cells for assessment of substance cytotoxicity. *J Environ Toxicol* 17:187-194.
- Azmat, R., Zille-Huma, A. Hayat, T. Khanum y R. Talat. 2005. The inhibition of bean plant metabolism by cadmium metal: Effects of cadmium metal on physiological process of bean plant and Rhizobium species. *Pak. J Biol Sci* 8:401-404.
- 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: Terry, N. y G. Bañuelos, G. (eds.). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. p. 129-158,
- Brooks, R. 1998. Geobotany and hyperaccumulators. En: Brooks, R. (ed.) *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. Cab International, Wallingford. p. 54-94
- Boonyapookana. B., P. Parkpian, S. Techapinyawat, R.D. DeLaune y A. Jugsujinda. 2006. Phytoaccumulation of Lead by Sunflower (*Helianthus annuus*), Tobacco (*Nicotiana tabacum*), and Vetiver (*Vetiveria zizanioides*). *J Environ Sci* 40: 117-137
- Cabrera, F., J. M. Murillo y R. López. 1999. Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadamar spill. *Sci Total Environ* 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. Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. *Adv Environ Res* 6:391-399
- 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. *J Plant 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 heavy metals in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J Plant Physiol* 158: 777-786.
- De la Rosa, G., G. Cruz-Jiménez, I. Cano-Rodríguez, R. Fuentes-Ramírez y J.L. Gardea-Torresdey. 2008. Efecto de la edad de la planta y presencia de SS-edds en la tolerancia y absorción de Cr (III) por *Helianthus annuus*. *Rev Mex Ing Quím* 7: 243-251
- DOF. 2004. Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Diario Oficial de la Federación 11 de Noviembre de 2005. Accesado el 27 de noviembre del 2008
- Espinosa-García M. 1996. Diagnóstico y manejo de la fertilización de cultivares de girasol. *Bol Soc Bot Mex* 58:55-74.
- Guevara, A., E. De la Torre, A. Villegas y E. Criollo 2008. Uso de la rizofiltración para el tratamiento de efluentes líquidos de cianuración que contienen cromo, cobre y cadmio. *Rev LatinAm Metal Mater* 2: 871-878

- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53:1-11.
- Iannacone, O., Alvarino F., L. 2005. Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. *Agric Tec Chile* 65:198-203.
- Jamal, S. N., M.Z. Iqbal y M. Athar, 2006. Effect of aluminum and chromium on the growth and germination of mesquite (*Prosopis juliflora* S.). *Internat J Environ Sci Technol* 3: 173-176.
- Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *J Environ Qual* 31:109-120.
- Lima, J.S., J.E. G. De Queiroz y H.B. Feitas. 2004. Effect of selected and non selected urban waste compost on the initial growth of corn. *Res Con Rec* 42: 309-315
- Madrid, F., M.S. Liphadzi y M.B. Kirkham. 2003. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *J Hydrol* 271:107-119.
- Mani, D., B. Sharma y C. Kumar. 2007. Phytoaccumulation, interaction, toxicity and remediation of cadmium from *Helianthus annuus* L. (sunflower). *Bull Environ Contam Toxicol* 79:71-79.
- McGrath, S.P., F.J. Zhao y E. Lombi. 2002. Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *J Plant Soil* 249: 37-43.
- Munzuroglu, O. 2006. Effects assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. *Bull Environ Contam Toxicol* 43:203-213.
- Nehnevajova, E., R. Herzig, G. Federer, K. Erismann y J.P. Schwitzguebel. 2005. Screening of sunflower cultivars for metal phytoextraction in a contaminated field prior to mutagenesis. *Int J Phytorem* 7: 337-349.
- 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.
- Peralta, J.R., J.L. Gardea-Torresdey, K.J. Tiemann, E. Gómez. S. Arteaga, E. Rascón y J.G. Parsons. 2001. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *B Environ Cont Toxicol* 66: 727-734.
- Reeves, R.D. 2003. Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *J Plant Soil* 249: 57-65.
- Reeves, R.D. y A.J.M. Baker. 2003. Metal accumulating plants. Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment: John Wiley and Sons Inc., New York, New York, USA. p.193-229.
- 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* *Sci Total Environ* 361:1-7.
- Rosa, C.E.V., Sierra, M. y C.M. Radetski. 1999. Use of plant tests in the evaluation of textile effluent toxicity. *Ecotox Environ Res* 2:56-61.
- SAS. Institute. 1990. SAS. User's Guide: Statistics, 4<sup>th</sup> ed. SAS Inst. Cary, NC.
- Segura, R. 2005. Microbial model and salt stress tolerance in plants. *Crit Rev Plant Sci* 13:121-138.
- Shafiq, M. y M.Z. Iqbal. 2005. The toxicity effects of heavy metals on germination and seedling growth of *Cassia siamea*. Lamark. *J New Seeds* 7: 95-105.

- Sierra, R.V. 2006. Fitorremediación de un Suelo Contaminado con Plomo por Actividad Industrial. Tesis de licenciatura Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Soudek, P., R. Tykva y T. Vanek. 2004. Laboratory analyses of <sup>137</sup>Cs uptake by sunflower, reed and poplar. *Chemosphere* 55:1081-1087.
- Soudek, P., S. Valenova, Z. Vavrikova, y T. Vanek. 2006. <sup>137</sup>Cs and <sup>90</sup>Sr uptake by sunflower cultivated under hydroponic conditions. *J Environ Radioac* 88: 236-250.
- Valles Aragón M. C., M. T. Alarcón Herrera. 2008. *Heliantus Annuus* en Suelos Contaminados con Metales Pesados. XVI Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. México D.F. 21-26 Abril 2008
- 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.
- Zou, J., P. Xu, X. Lu, W. Jiang y D. Liu. 2008. Accumulation of cadmium in three Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) cultivars. Pak. *J Bot* 40: 759-765.