

USO DE LEGUMINOSAS (FABACEAE) EN FITORREMEDIACIÓN

USE OF LEGUMES (FABACEAE) FOR PHYTOREMEDIATION

Noguez-Inesta, A.¹; López-Sánchez, A.S.¹; Carrillo-González, R.¹; González-Chávez, M.C.A.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5. Carretera México-Texcoco, Texcoco Edo. de México 56230.

Autor de Correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

La contaminación de suelo por elementos potencialmente tóxicos (EPT) es un problema actual de preocupación mundial. Los métodos comúnmente utilizados para remediar sitios contaminados se basan en técnicas caras y complicadas de difícil implementación en campo. Ante ello, existe la alternativa de utilizar plantas para lidiar con la contaminación de EPT en suelo (fitorremediación). No obstante, establecer plantas en sitios contaminados es difícil dado las características químicas que limitan el crecimiento de especies vegetales, tales como valores extremos de pH, además de salinidad, concentración alta de EPT y el escaso contenido de nutrientes. Ante ello, el uso de leguminosas (Fabaceae) en la remediación es de utilidad por el hecho de que éstas son capaces de fijar nitrógeno atmosférico y depender menos de la fertilización para satisfacer su requerimiento nutricional. En el presente trabajo se discute el potencial y uso de leguminosas en la remediación de suelos con altas concentraciones de EPT.

Palabras clave: fijación biológica de nitrógeno, remediación, metales pesados

ABSTRACT

Soil contamination by potentially toxic elements (PTE) is a global concern. The technologies commonly used to remediate polluted sites are based on expensive and complicated techniques of difficult implementation in the field. Nevertheless, there is an alternative using plants to deal with polluted soils (phytoremediation). However, establishing plants in contaminated sites is difficult given the chemical characteristics that limit plant growth, such as extreme pH values, high salt content, low organic matter, high concentration of PTE, and scarce nutrient content. The use of legumes (Fabaceae) in remediation is advantageous because these plants are able to fix atmospheric nitrogen and thus depend less on fertilization to satisfy their nutritional requirements. In this study the potential use of legumes for soil remediation with high concentrations of PTE is discussed.

Keywords: biological nitrogen fixation, remediation, heavy metals.



INTRODUCCIÓN

Además de la toxicidad por el contenido de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en suelos contaminados, se pueden tener otras limitantes para el desarrollo de plantas, tales como la falta de agua, áreas con pendientes pronunciadas y bajo contenido de nutrientes. Sin embargo, existen reportes de diversas plantas capaces de establecerse y desarrollarse en sitios contaminados (Flores-Tavizón *et al.*, 2003; González y González-Chávez, 2006; Figueroa *et al.*, 2008; 2011; Martínez-Sánchez *et al.*, 2012; Cortés-Jiménez *et al.*, 2013). Sánchez-López *et al.* (2015) observaron que *Dalea bicolor* y *Crotalaria pumila* fueron algunas de las leguminosas (Fabaceae) pioneras establecidas en dos sitios contaminados con residuos de mina. La introducción de plantas puede mejorar las condiciones de un suelo contaminado; esto porque incorporan materia orgánica al suelo. Las plantas nativas que han logrado establecerse se consideran pioneras y suelen desarrollarse en islas de vegetación que mejoran las condiciones del suelo paulatinamente para que otras especies puedan crecer (Figura 1), por lo que tienen potencial de uso de remediación. De especial interés son las plantas que logren completar su ciclo biológico y se reproduzcan bajo las condiciones mencionadas (Kranner y Colville, 2011), además de que tengan la capacidad de crecer rápidamente y que requieran poco manejo agronómico.

Importancia de las leguminosas en la fitorremediación

La deficiencia de nitrógeno limita el restablecimiento de flora en sitios contaminados. Las leguminosas son un grupo grande y diverso de plantas que se encuentra distribuido en distintos ecosistemas alrededor de mundo (Lewis *et al.*, 2005). Éstas constituyen la familia más grande de plantas con flores en el planeta, con 727 géneros y 19,325 especies. Una característica que la dis-

tingue es que en las raíces hay presencia de nódulos que hospedan bacterias de géneros como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Mesorhizobium*.

Estas bacterias proporcionan a la planta el nitrógeno necesario para su metabolismo al ser capaces de transformarlo de atmosférico (N_2), que las plantas no pueden absorber, en nitrato (NO_3^-), que sí pueden utilizar (Franche *et al.*, 2008). Graham y Vance (2003) afirmaron que 88% de las leguminosas son capaces de formar nódulos con *Rhizobium*. No obstante, estas bacterias pueden generar un hábitat adecuado para el desarrollo de otros géneros de bacterias de vida libre en los que se ha observado fijación de nitrógeno, tales como *Azospirillum* (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000) o *Xanthobacter* (Alam *et al.*, 2001). Así, la actividad rizosférica ayuda en la optimización del entorno ambiental del sitio contaminado (Lindström *et al.*, 2003) y la estructura del suelo se mejora por el efecto de las raíces que generan aireación del suelo. Además, el ecosistema del suelo se activa a causa de la secreción de compuestos, nutrientes y nitrógeno biológicamente fijado, derivado de bacterias del nódulo radical. Estas especies son capaces de establecerse en sitios contaminados con altas concentraciones de EPT (Bécquer, 2004; Dary *et al.*, 2010). La asociación simbiótica *Rhizobium*-leguminosa se ha estudiado como una herramienta de recolonización y biorremediación de suelos perturbados (Pajuelo *et al.*, 2007; Graham y Vance, 2003; Lewis *et al.*, 2005). La tasa de fijación de N_2 en entornos contaminados suele ser baja; sin embargo, puede incrementarse con la adición de fósforo (Spehn *et al.*, 2002), el manejo de enmiendas o la inoculación con otros microorganismos benéficos del suelo, y con ello satisfacer las necesidades de N y otros nutrientes necesarios para el adecuado crecimiento de la leguminosa. El uso de leguminosas en la rehabilitación de



Figura 1. Plantas de interés en la fitorremediación de sitios contaminados con residuos de mina.

sitios perturbados es una tecnología económicamente viable y al alcance de productores y empresarios (Graham y Vance, 2003; Wang *et al.*, 2012). Así mismo, las leguminosas altamente productoras de biomasa y fitoestabilizadoras se pueden usar como forraje y como cubierta para recuperar sitios contaminados (Guefrachi *et al.*, 2013). No obstante, es necesario seleccionar adecuadamente la cepa bacteriana, así como la planta hospedera, ya que de esto depende el éxito de la fitorremediación (Kuiper *et al.*, 2004). Se ha demostrado que, además de aumentar la cantidad de nitrógeno en el sistema, los rizobios (simbiontes naturales de leguminosas) son resistentes a EPT y algunas cepas toleran concentraciones de 300 mg kg⁻¹ de As, 100 mg kg⁻¹ de Cu y 500 mg kg⁻¹ de Pb (Carrasco *et al.*, 2005; Iniesta *et al.*, en este número). Se sabe que algunos son capaces de colonizar diferentes leguminosas y existe poca especificidad del rizobio con la planta hospedera (Broughton 2003).

Ejemplos de leguminosas útiles en la fitoestabilización

Al ser las primeras colonizadoras de suelos pobres o degradados y con variedades adaptadas a diferentes entornos, las leguminosas prometen buenos resultados en fitorremediación (Lindström *et al.*, 2003), en muchos de los cuales se han utilizado algunas especies de leguminosas, tales como *Galega orientalis* (Lindström *et al.*, 2003) y el altramuz (*Lupinus albus*), que tienen capacidad de acumular Zn, Cd Cu y Pb y modificar la química rizosférica (Martínez-Alcalá *et al.*, 2010). *Lupinus luteus* también se ha asociado con un consorcio bacteriano (*Bradyrhizobium* sp., *Pseudomonas* sp. y *Ochrobactrum cytisii*),

con lo que se logró acumulación de hasta 806 mg kg⁻¹ de Zn, 150 mg kg⁻¹ de Cu, 4.8 mg kg⁻¹ de Cd, y 80 mg kg⁻¹ de Pb en raíces de la planta (Dary *et al.*, 2010). Además, se ha observado que la simbiosis rizobio-leguminosa puede servir como una herramienta para estabilizar As y otros EPT (Carrasco *et al.*, 2005; Pajuelo *et al.*, 2007). En un estudio realizado por Pajuelo *et al.* (2008) se demostró que 25 y 35 mM de arsenito inhibieron 75% la nodulación de *Sinorhizobium* sp. en *Medicago sativa*, debido a daños sobre los pelos radicales, necrosis radical y retraso de la elongación radical. Sin embargo, una vez establecida la nodulación, la planta se desarrolló normalmente. Otros estudios han conjuntado el uso de leguminosas, tales como *Medicago sativa*, *Trifolium subterraneum* y *Lotus japonicum*, con agentes quelatantes como EDTA para aumentar la disponibilidad de EPT en un intento de utilizarlas en la fitoextracción. Sin embargo, los metales como As, Cu y Pb solo se absorben en raíz y no se traslocan a la parte aérea en plantas de *M. sativa* y *T. subterraneum* (Pajuelo *et al.*, 2007). El altramuz blanco (*Lupinus albus*) acumula bajas concentraciones de Cd y As; sin embargo, el cultivo de esta planta en campo ayuda a aumentar el pH por la excreción de citrato y, por lo tanto, disminuye la fracción soluble de EPT en el suelo. Los resultados anteriores apoyan el uso de altramuz blanco en la fitoestabilización y revegetación de suelos contaminados con As y Cd (Vázquez *et al.*, 2006). En otra investigación, altramuz blanco acumuló hasta 4650 mg kg⁻¹ de Zn en las raíces, lo que lo convierte en una especie potencial para fitoestabilización de este metal (Pastor *et al.*, 2003). Asimismo, Martínez-Alcalá *et*

al. (2012) comprobaron que el altramuz blanco es capaz de estabilizar Fe, Mn, Zn, Cu, Pb y Cd en suelos ácidos y alcalinos. En otras leguminosas se ha reportado resistencia a EPT; por ejemplo, *Sesbania virgata* que tolera altas concentraciones de Cu (500 mg kg⁻¹), Zn (800 mg kg⁻¹) y Cr (160 mg kg⁻¹), y estabiliza estos EPT en su raíz, por lo que esta especie podría utilizarse en la fitoestabilización de EPT en suelos contaminados (Branzini *et al.*, 2012). Otras como el huizache (*Acacia farnesiana*), que tiene la capacidad de acumular concentraciones de hasta 2000 mg kg⁻¹ de Pb en su sistema radical, lo que la convierte en una especie con potencial para la fitoestabilización (Salas *et al.*, 2006). En otro estudio, Maldonado-Magaña y Favela-Torres (2011) demostraron que esta planta es capaz de tolerar concentraciones cercanas a 1000 mg kg⁻¹ de Pb en suelo y acumular en su raíz hasta 51928 mg kg⁻¹ de Pb en peso seco. Se ha observado que a concentraciones de 500 mg kg⁻¹ no existe peroxidación lipídica; por el contrario, aumenta la concentración de glutatión, una sustancia antioxidante asociada a la resistencia de EPT en plantas, lo que sugiere alta capacidad de *A. farnesiana* para soportar el estrés oxidativo inducido por Pb. El huizache es tolerante a altas concentraciones de EPT; por lo tanto, puede considerarse para su uso en remediación y reducir la erosión de sitios contaminados por EPT, tales como residuos de mina (Mendoza *et al.*, 2008; Santos-Jallath *et al.*, 2012). En otro estudio, Guefrachi *et al.* (2013) registraron que plantas de *Lathyrus sativus*, *Lens culinaris*, *Medicago marina*, *M. truncatula* y *M. minima* pueden formar nódulos con bacterias fijadoras en presencia de Cd. Estos autores también encontraron que en baja

concentración (2 mg kg^{-1}) de Cd se estimula la fijación de nitrógeno en los nódulos de las plantas, por lo que pueden ser de utilidad en suelos contaminados con Cd en menos de 2 mg kg^{-1}).

Leguminosas usadas en fitoextracción

Plantas como *Sesbania drummondii* acumulan altas concentraciones de Pb ($>1000 \text{ mg kg}^{-1}$), por lo que puede considerarse como una planta hiperacumuladora de este EPT. Sin embargo, cuando hay altas concentraciones de otros EPT, la capacidad de acumular Pb disminuye, probablemente debido a un efecto competitivo entre los EPT (Isar *et al.*, 2011). En condiciones de invernadero, *Melilotus alba* (trébol blanco) y *M. officinalis* (trébol amarillo) acumula en sus hojas y brotes concentraciones superiores a 4800 mg kg^{-1} de Pb. La alta concentración de Pb acumulado guarda estrecha relación con la producción de fitoquelatinas en las raíces y homofitoquelatinas en los brotes (Fernández *et al.*, 2012). Estos metabolitos vegetales favorecen la solubilización, absorción, transporte y posterior compartimentalización del Pb acumulado en vacuolas. Sriprang *et al.* (2002) lograron incrementar la capacidad de acumulación de Cd en nódulos de *Astragalo sinicus* mediante la expresión de metationeina en *Mesorhizobium huakuii* subespecie *rengei* B₃. Además, se ha observado que plantas de haba (*Vicia faba*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y chícharo (*Pisum sativum*) asociadas a un consorcio bacteriano removieron ~60%, 55% y 50% de Hg para haba, frijol y chícharo, respectivamente, de suelos contaminados artificialmente con hidrocarburos y HgCl_2 (Sorkhoh *et al.*, 2010). No obstante, en la fitorremediación no se recomienda el uso de especies agrícolas comestibles, ya que su consumo representa riesgo de exposición de Hg y otros EPT.

CONCLUSIONES

Tanto en fitoestabilización como en fitoextracción, el uso de leguminosas (Fabaceae) ha tenido resultados prometedores, dada su capacidad para tolerar EPT y, a su vez, fijar nitrógeno atmosférico. Por ello, estas representan especies de mucho interés para su uso en la fitorremediación de sitios contaminados con EPT.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto PDCAPN-2013-215241.

LITERATURA CITADA

Adriano D.C., Wenzel W.W., Vangronsveld J., Bolan N.S. 2004. Role

of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 122: 121-142.

- Alam M.S., Cui Z.J., Yamagishi T., Ishii R. 2001. Grain yield and related physiological characteristics of rice plants *Oryza sativa* L. inoculated with free-living rhizobacteria. *Plant Production Science* 4: 125-130.
- Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I., Garbisu C. 2004. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 3: 71-90.
- Audet P., Charest C. 2007. Heavy metal phytoremediation from a metal-analytical perspective. *Environmental Pollution* 147: 231-237.
- Baker A.J.M., McGrath S.P., Sidoli C.M.D., Reeves R.D. 1994. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources Conservation and Recycling* 11: 41-49.
- Bañuelos G.S. 2000. Phytoextraction of selenium from soils irrigated with selenium-laden effluent. *Plant and Soil* 224: 251-258.
- Bécquer C.J. 2004. Descripción y clasificación de rizobios: Enfoque histórico, métodos y tendencias actuales. *Revista Biología* 18: 9-18.
- Black H. 1995. Absorbing possibilities: Phytoremediation. *Environmental Health Perspectives* 103: 1106-1108.
- Bourg I.C., Sposito G, Bourg A.C.M. 2007. Modeling the acid-base surface chemistry of montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science* 312: 297-310.
- Branzini A., González R.S., Zubillaga M. 2012. Absorption and translocation of copper, zinc and chromium by *Sesbania virgata*. *Journal of Environmental Management* 102: 50-54.
- Brooks R.R., Chambers M.F., Nicks L.J., Robinson B.H. 1998. Phytomining. *Trends in Plant and Science* 1: 359-362.
- Broughton W. 2003. Roses by other names: Taxonomy of the Rhizobiaceae. *Journal of Bacteriology* 185: 2975.
- Bural G., Dixon D., Glick B. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology* 46: 237-245.
- Burt R., Wilson M.A., Keck T.J., Dougherty B.D., Strom D.E., Lindahl J.A. 2003. Trace element speciation in selected smelter-contaminated soils in anaconda and deer lodge valley, Montana, USA. *Advances in Environmental Research* 8: 51-67.
- Cañizares R. 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42: 131-143.
- Carrasco J.A., Armario P., Pajuelo E., Burgos A., Caviedes M.A., López R., Chamber M.A., Palomares A.J. 2009. Isolation and characterization of symbiotically effective *Rhizobium* resistant to arsenic and heavy metals after the toxic spill at the Aznalcollar pyrite mine. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1131-1140.
- Chaney R.L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279-284.
- Chen Y., Wang Y., Wu W., Lin Q., Xue S. 2006. Impacts of chelate-assisted phytoremediation on microbial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and nonaccumulator. *Science of the Total Environment* 356: 247-255.
- Clemens S., Palmgren M.G., Kramer U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7: 309-315.

- Cuadrado B., Rubio G. Santos W. 2009. Characterization of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*'s strains (with ability of nodulation) selected from bean (*Vigna unguiculata*) cultures as a potentials bioinoculants. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas* 38: 78-104.
- Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* 13: 393-397.
- Dary M., Chamber-Pérez M.A., Palomares A.J., Pajuelo E. 2010. "In situ" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *Journal of Hazardous Materials* 177: 323-330.
- De Olivera L. 2004. Heavy metal biosorption by chitin and chitosin isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). *Brazilian Journal of Microbiology* 35: 243-247.
- Dua M., Sethunathan N., Johri A.K. 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59:143-152.
- Fernandez R., Bertranda A., Garciab J.I., Tamesa R.S., González A. 2012. Lead accumulation and synthesis of non-protein thiolic peptides in selected clones of *Mellilotus alba* and *Mellilotus officinalis*. *Environmental and Experimental Botany* 78: 18-24.
- Franche E., Lindstron K., Elmerich C. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and Soil* 321: 35-59.
- Gerhardt K.E., Huang X.D, Glick B.R., Greenberg B.M. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Science* 176: 20-30.
- Ghosh M. Singh S.P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 1-18.
- Gómez-Álvarez A., Villalba A.A., Acosta R.G., Castañeda O.M., Camp D. 2009. Metales pesados en el agua superficial del Río San Pedro durante 1997 y 1999. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 20: 1-8.
- Graham P.H., Vance C.P. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131: 872-877.
- Guefrachi I, Rejjli M., Mahdhi M., Marte M. 2013. Assessing genotypic diversity and symbiotic efficiency of five rhizobial legume interactions under cadmium stress for soil phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 10: 938-951.
- Henry J.R. 2000. In an overview of phytoremediation of lead and mercury. *NNEMS Report*. Washington, D.C.; pp. 3-9.
- Houben D., Pircar J., Sonnet P. 2012. Heavy metal immobilization by cost-effective amendments in a contaminated soil: Effects on metal leaching and phytoavailability. *Journal of Geochemical Exploration* 123: 87-94.
- Israr M., Jewella A., Kumarb D. Sahia S.V. 2011. Interactive effects of lead, copper, nickel and zinc on growth, metal uptake and antioxidative metabolism of *Sesbania drummondii*. *Journal of Hazardous Materials* 186: 1520-1526.
- Kramer V. 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current opinions in Biotechnology* 16: 133-141.
- Kuiper I., Lagendijk I.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J. 2004. Rhizoremediation: A beneficial plant-microbe interaction. *The American Phytopathological Society* 17: 6-15.
- Kumpiene J., Lagerkvist A., Maurice C. 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments a review. *Waste Management* 28: 215-225.
- Lambert M., Leven B.A., Green R.M. 2004. New methods of cleaning up heavy metal in soils and water. *Environmental Science and Technology Briefs for Citizens* 17: 143-151.
- Le Duc D. Terry N. 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32: 514-520.
- Lindström K., Minna M.J., Hintsä H., Kaksonen A. 2003. Potential of *Galega-Rhizobium galegae* system for bioremediation of oil-contaminated soil. *Food Technology and Biotechnology* 12: 11-16.
- Luo L., Shen Z., Li X. 2007. Plant uptake and the leaching of metals during the hot edds-enhanced phytoremediation process. *International Journal of Phytoremediation* 9: 181-196.
- Maldonado-Magaña A., Favela-Torres E., Rivera-Cabrera F., Volke-Sepulveda T.L. 2011. Lead bioaccumulation in *Acacia farnesiana* and its effect on lipid peroxidation and glutathione production. *Plant and Soil* 339: 377-389.
- Martínez-Alcalá I., Walker D.J., Bernal M.P. 2010. Chemical and biological properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* alter soil heavy metal fractionation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 595-602.
- Martínez-Alcalá I., Clemente R., Bernal M.P. 2012. Efficiency of a phytoimmobilization strategy for heavy metal contaminated soils using white lupin. *Journal of Geochemical Exploration* 123: 95-100.
- Mendoza-Benítez I., De la Rosa-Álvarez M.G., Cruz-Jiménez G. 2008. Identificación de especies vegetales relacionadas con jales mineros del distrito minero de Guanajuato. *Biologicas* 28: 94-99.
- Montaberry A. 2011. Fitorremediación. Curso de agrobiotecnología, Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires 150 p.
- Mueller B., Rock S., Gowswami D. Ensley D. 1999. Phytoremediation decision tree. Prepared by Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group. pp. 1-36
- Novotny V., Bartošová A., O'Reilly N., Ehlinger T. 2004. Unlocking the relationships of biotic integrity to anthropogenic stresses. *Water Research* 39:184-198.
- Pagnanelli F., Moscardini E., Giuliano V. Toro L. 2004. Sequential extraction of heavy metals in river sediments of an abandoned pyrite mining area: Pollution detection and affinity series. *Environmental Pollution* 132: 189-201.
- Pajuelo E., Carrasco J.A., Romero L.C., Chamber M.A. Gotor C. 2007. Evaluation of the metal phytoextraction potential of crop legumes. Regulation of the expression of O-acetylserine (thiol) lyase under metal stress. *Plant Biology* 9: 672-681.
- Pajuelo E., Rodríguez-Llorente I.D., Dary M., Palomares A.J. 2008. Toxic effects of arsenic on *Sinorhizobium-Medicago sativa* symbiotic interaction. *Environmental Pollution* 154: 203-211.
- Pastor J., Hernández A.J., Prieto N., Fernández-Pascual M. 2003. Accumulating behavior of *Lupinus albus* L. growing in a normal and a decalcified calcic luvisol polluted with Zn. *Journal of Plant Physiology* 160: 1457-1465.
- Peng J., Song Y., Yuan P., Cui X., Qiu G. 2009. The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Journal of Hazardous Materials* 161: 633-640.
- Pilon-Smits E.A.H. 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56: 15-39.
- Rahimi M., Farhadi R. y Mehdizadeh R. 2013. Phytoremediation: using plants to clean up contaminated soils with heavy metals. *International Journal of Agriculture* 3: 148-152.

- Raskin I., Ensley B.D. 2000. Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. John Wiley New York. pp. 53-70.
- Robinson B., Schulin R., Nowack B., Roullet S., Menon M., Clothier B., Green S. Mills T. 2006. Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated site. *Forest Snow and Landscape Research* 80: 221-234.
- Salas M.A., Adame M., Manzanares E., Vega H.R., Hernández V.M., Letechipia C. 2006. Vegetación asociada en desechos mineros con potencial para fitoestabilización en Zacatecas, México. *Revista Digital de la Universidad Autónoma de Zacatecas* 26: 1-2.
- Sánchez-López A.S., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Vangronsveld J., Díaz-Garduño M. 2015. Wild flora of mine tailings: Perspectives for use in phytoremediation of potentially toxic elements in a semi-arid region in Mexico. *International Journal of Phytoremediation* 17: 476-484.
- Santos-Jallath J., Castro-Rodríguez A., Huezco-Casillas J., Torres-Bustillos L. 2012. Arsenic and heavy metals in native plants at tailings impoundments in Queretaro, Mexico. *Physics and Chemistry of the Earth* 39: 10-17.
- Sauquillo A., Rigol A., Rauret G. 2003. Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *Trends in Analytical Chemistry* 22: 152-159.
- Sorkhoh N.A., Ali N., Al-Awadhi H., Dashti N., Al-Mailem D.M., Eliyas M., Radwan S.S. 2010. Phytoremediation of mercury in pristine and crude oil contaminated soils: Contributions of rhizobacteria and their host plants to mercury removal. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1998-2003.
- Sriprang R., Hayashi M., Yamashita M., Ono H., Saeki K., Murooka Y. 2002. A novel bioremediation system for heavy metals using the symbiosis between leguminous plant and genetically engineered rhizobia. *Journal of Biotechnology* 99: 279-293.
- Spehn E.M., Scher-Lorensen M., Schmid B., Hector A., Caldiera M.C., Dimitrakopoulos P.G., Finn J.A., Jumpponen A., O'Donovan G., Pereira J.S., Schulze E.D., Troumbis A. Y., Körner C. 2002. The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos* 98: 205-218.
- Steenhoudt O., Vanderleyden J. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Review*. 24: 487-506.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1997. *Cleaning Up the Nation's Waste Sites: Markets and Technology Trends*, EPA/542/R-96/005, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
- Vassilev A., Schwitzquelbel J., Thewys T., Van Der Lelie D., Vangronsveld J. 2004. The use of plant for remediation of metal contaminated soils. *Scientific World Journal* 16: 9-34.
- Vázquez S., Agha R., Granado A., Sarro M.J., Esteban E., Peñalosa J. M., Carpena R.O. 2006. Use of white lupin plant for phytostabilization of Cd and As polluted acid soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 177: 399-365.
- Viñas M., Sabuté J., Espuny M., Solares A. 2005. Bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation during bioremediation of heavily creosote contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 7008-7018.
- Wang J., Zhao F.J., Meharg A.A., Raab A., Feldmann J. 2002. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiology* 130: 1552-1561.
- Wang D., Yang S., Tang F., Zhu H. 2012. Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology* 14: 334-342.
- Wenzel W.W., Bunkowskia M., Puschenreitera M., Horak O. 2003. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil. *Environmental Pollution* 123: 131-138.