

AGRO PRODUCTIVIDAD

AP

 **ÍNDICE DE REVISTAS MEXICANAS**
CONACYT DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

USO DE LEGUMINOSAS (FABACEAE) EN **FITORREMEDIACIÓN**

pág. 57

Año 10 • Volumen 10 • Número 4 • abril, 2017

DEFINICIONES Y PROBLEMÁTICA EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN ASPECTOS DE FITOREMEDIACIÓN DE SUELOS	3
ALTERNATIVAS DE FITORREMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS	8
FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA CON ENMIENDAS Y FITOESTABILIZACIÓN DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS	15
VERMICOMPOST Y ESTIÉRCOL OVINO PARA ESTABILIZAR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN UN RESIDUO DE MINA	21
FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS CON ENFÁSIS EN HONGOS ARBUSCULARES	28
FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS: ENFÁSIS EN BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS	34

y más artículos de interés...

PRECIO AL PÚBLICO \$75.00 PESOS


**COLEGIO DE
POSTGRADUADOS**

Guía para autores

Estructura

Agroproductividad es una revista de divulgación científica y tecnológica, auspiciada por el Colegio de Postgraduados de forma mensual para entregar los resultados obtenidos por los investigadores en ciencias agrícolas y afines. En ella se publica información original y relevante para el desarrollo agropecuario, social y otras disciplinas relacionadas, en formato de artículo, nota o ensayo. Las contribuciones son arbitradas y la publicación final se hace en idioma español. La contribución debe tener una extensión máxima de 15 cuartillas, incluyendo las ilustraciones. Deberá estar escrita en Word a doble espacio empleando el tipo Arial a 12 puntos y márgenes de 2.5 cm. Debe evitarse el uso de sangría al inicio de los párrafos. Las ilustraciones serán de calidad suficiente para su impresión en offset a colores, y con una resolución de 300 dpi en formato JPEG, TIFF o RAW.

La estructura de la contribución será la siguiente:

1) Artículos: una estructura clásica definida por los capítulos: Introducción, Resumen, abstract, objetivos, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones y Literatura Citada; 2) Notas, Ensayos y Relatorias: deben tener una secuencia lógica de las ideas, exponiendo claramente las técnicas o metodologías que se transmiten o proponen.

Formato

Título. Debe ser breve y reflejar claramente el contenido. Cuando se incluyan nombres científicos deben escribirse en *itálicas*.

Autor o Autores. Se escribirán él o los nombres completos, separados por comas, con un índice progresivo en su caso. Al pie de la primera página se indicará el nombre de la institución a la que pertenece el autor y la dirección oficial, incluyendo el correo electrónico.

Cuadros. Deben ser claros, simples y concisos. Se ubicarán inmediatamente después del primer párrafo en el que se mencionen o al inicio de la siguiente cuartilla. Los cuadros deben numerarse progresivamente, indicando después de la referencia numérica el título del mismo (Cuadro 1. Título), y se colocarán en la parte superior. Al pie del cuadro se incluirán las aclaraciones a las que se hace mención mediante un índice en el texto incluido en el cuadro.

Figuras. Corresponden a dibujos, gráficas, diagramas y fotografías. Las fotografías deben ser de preferencia a colores y con una resolución de 300 dpi en formato JPEG, TIFF o RAW.

Unidades. Las unidades de pesos y medidas usadas serán las aceptadas en el Sistema Internacional.

Citas libros y Revistas:

- Bozzola J. J., Russell L. D. 1992. Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists. Ed. Jones and Bartlett. Boston. 542 p.
- Calvo P., Avilés P. 2013. A new potential nano-oncological therapy based on polyamino acid nanocapsules. Journal of Controlled Release 169: 10-16.
- Gardea-Torresdey J. L., Peralta-Videa J. R., Rosa G., Parsons J. G. 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. Coordination Chemistry Reviews 249: 1797-1810.

Año 10, Volumen 10, número 4, abril 2017, Agro productividad es una publicación mensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México- Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230. Tel. 5959284427. www.colpos.mx. Editor responsable: Dr. Jorge Cadena Iñiguez. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2017-031313492200-203. ISSN: "en trámite", ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Subdirección de Organización y Cómputo del Colegio de Postgraduados, Dr. Martiniano Castro Popoca, Carretera México- Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP 56230. Tel. 58045980 ext. 1035. Fecha de última modificación, 30 de abril de 2017.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Colegio de Postgraduados.



El costo por publicación aceptada es \$2500.00 MX.



Contenido

3	DEFINICIONES Y PROBLEMÁTICA EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN ASPECTOS DE FITOREMEDIACIÓN DE SUELOS
8	ALTERNATIVAS DE FITOREMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
15	FITOREMEDIACIÓN ASISTIDA CON ENMIENDAS Y FITOESTABILIZACIÓN DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
21	VERMICOMPOST Y ESTIÉRCOL OVINO PARA ESTABILIZAR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN UN RESIDUO DE MINA
28	FITOREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS CON ÉNFASIS EN HONGOS ARBUSCULARES
34	FITOREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS: ÉNFASIS EN BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS
41	CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO DE PLANTAS Y SU TOLERANCIA A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
48	<i>Ricinus communis</i> L., Y <i>Pseudomonas</i> sp. PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE MINA
57	USO DE LEGUMINOSAS (FABACEAE) EN FITOREMEDIACIÓN
63	¿ES POSIBLE USAR SUELOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS PARA PRODUCCIÓN DE PLANTAS DE INTERÉS BIOENERGÉTICO?
68	ASPECTOS LEGALES DE SUELOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN MÉXICO Y LA PERTINENCIA DE LA FITOREMEDIACIÓN
73	APLICACIONES Y DESAFÍOS DE LA NANOTECNOLOGÍA EN EL CONTROL Y MITIGACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN
80	ABSORBER, INMOVILIZAR O ATRAPAR: FUNCIONES DE LAS PLANTAS EN LA REMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
87	ADICIÓN DE CAL PARA DISMINUIR LA DISPONIBILIDAD DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN UN RESIDUO DE MINA
92	DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO UTILIZANDO UN MICROBIOMA AGRÍCOLA
100	IMPACTO DE LA MINERÍA SOBRE LOS RECURSOS NATURALES

SAGARPA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN



ÍNDICE DE REVISTAS MEXICANAS
CONACYT DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



Corrección de estilo: Hannah Infante Lagarda

Maquetación: Alejandro Rojas Sánchez

Suscripciones, ventas, publicidad, contribuciones de autores:

Guerrero 9, esquina Avenida Hidalgo, C.P. 56220, San Luis Huexotla, Texcoco, Estado de México.

Teléfono: 01 (595) 928 4703 jocadena@colpos.mx; jocadena@gmail.com

Impresión 3000 ejemplares.

Es responsabilidad del autor el uso de las ilustraciones, el material gráfico y el contenido creado para esta publicación.

Las opiniones expresadas en este documento son de exclusiva responsabilidad de los autores, y no reflejan necesariamente los puntos de vista del Colegio de Postgraduados, de la Editorial del Colegio de Postgraduados, ni de la Fundación Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas.

Directorio

Said Infante Gil

Editor General del Colegio de Postgraduados

Rafael Rodríguez Montessoro†

Director Fundador

Jorge Cadena Iñiguez

Director de Agroproductividad

Comité Técnico-Científico

Colegio de Postgraduados—Montecillo

Ma. de Lourdes de la Isla

Dr. Ing. Agr. Catedrática Aereopolución

Ángel Lagunes T.

Dr. Ing. Agr. Catedrático Entomología

Enrique Palacios V.

Dr. Ing. Agr. Catedrático Hidrociencias

Colegio de Postgraduados—Córdoba

Fernando Carlos Gómez Merino

Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Colegio de Postgraduados—San Luis Potosí

Fernando Clemente Sánchez

Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

Luis Antonio Tarango Arámbula

Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

Instituto de Investigaciones Forestales,
Agrícolas y Pecuarias

Pedro Cadena I.

Dr. Ing. Agr. Transferencia de Tecnología

Carlos Mallen Rivera

M. C. Director de Promoción y Divulgación

Instituto Interamericano de Cooperación
para la Agricultura

Victor Villalobos A.

Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Instituto Interamericano de Cooperación
para la Agricultura

(Guatemala)

Manuel David Sánchez Hermosillo

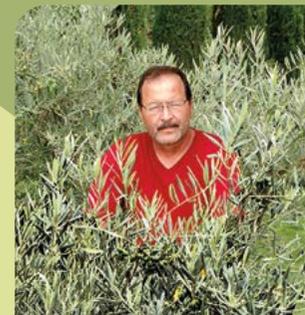
Dr. Ing. Agr. Nutrición Animal y manejo de Pastizales

Servicio Nacional de Inspección y
Certificación de Semillas
(SNICS-SAGARPA)

Manuel R. Villa Issa

Dr. Ing. Agr. Economía Agrícola.

Director General



Dr. Jorge Cadena Iñiguez

Editorial

Volumen 10 • Número 4 • abril, 2017.

En México se puede seguir la huella de la contaminación a través de los efectos residuales de sus agentes causales, por ejemplo, el Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes (RETC), reporta que al menos 64% de emisiones tóxicas en el país proceden del sector minero, seguido de las centrales eléctricas y la maquila de equipo electrónico. También se registra la aplicación de cerca de más de 2300 sustancias químicas aplicadas en actividades agrícolas, de las cuales 90% son de origen sintético, 10% son bioplaguicidas, y 20% tiene algún tipo de restricción para su uso. En este número,  entrega, una serie especial acerca del tema de la fitorremediación, cuyos resultados de investigación muestran acciones con especies vegetales secuestradoras, uso de enmiendas y microorganismos para su uso inmediato y con efectos importantes en la descontaminación de los suelos afectados por residuos mineros y elementos potencialmente tóxicos por otras actividades humanas. Las contribuciones se muestran con detalle y lenguaje accesible, iniciando con conceptos y definiciones que facilitará la comprensión de los usuarios, y resaltando además la derivación tecnológica de rápida aplicación, manifestando el nivel de especialidad del grupo de investigación del Colegio de Postgraduados encargado de este tema tan importante.

Dr. Jorge Cadena Iñiguez

Director de 

DEFINICIONES Y PROBLEMÁTICA EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN ASPECTOS DE FITOREMEDIACIÓN DE SUELOS

DEFINITIONS AND DIFFICULTIES IN SCIENTIFIC RESEARCH REGARDING ASPECTS OF SOIL PHYTOREMEDIATION

González-Chávez M.C.A.^{1*}; Carrillo-González R.¹; Sánchez-López A.S.¹

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

Autor de Correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Dentro de la terminología que se utiliza en la fitorremediación existen muchas expresiones ambiguas que conducen frecuentemente a la confusión en la comunidad científica sobre la interpretación, discusión, transmisión y aplicación de la información del tema, así como de la difusión de las tecnologías de fitorremediación a otros sectores de la sociedad. En el presente trabajo se intenta aclarar el uso y significado de las expresiones más comunes con la finalidad de adoptar terminología objetiva, clara, correcta y estandarizada en relación con la contaminación y fitorremediación de sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos, conocidos comúnmente como metales pesados.

Palabras clave: remediación, metales pesados, contaminación conceptos

ABSTRACT

Within the terminology used in phytoremediation, there are many ambiguous terms that frequently lead to confusion in the scientific community language about the interpretation, discussion, transmission and application of information about the theme, as well as the diffusion of the phytoremediation technologies to other sectors of society. In this study we attempt to clarify the use and meaning of the most common terms with the aim of adopting objective, clear, correct and standardized terminology related to contamination and phytoremediation of sites polluted with potentially toxic elements, also known commonly as heavy metals.

Keywords: remediation, heavy metals, contamination concepts.

INTRODUCCIÓN

Definiciones más pertinentes de los metales pesados

En el estudio de elementos contaminantes se han integrado varios términos que aluden al mismo concepto: metales pesados, elementos traza o elementos potencialmente tóxicos. Metales pesados es un término químico que se refiere a elementos que tienen densidad mayor de 5 g cm^{-3} . Sin embargo, en varios casos, al describir al metal pesado, no se incluyen a elementos metálicos que son tóxicos, como el aluminio, cuya densidad es de 2.6 g cm^{-3} . Tampoco incluye a metaloides, tales como el arsénico o el antimonio, los cuales no son propiamente metales, con densidad de 5.7 y 6.6 g cm^{-3} , respectivamente. Elemento traza es un término que en general se refiere a aquellos que están presentes en un medio o sistema en concentraciones muy bajas. Algo similar ocurre con el vocablo micro-elemento. En nutrición vegetal generalmente se incluye dentro de este término a los elementos que tienen función fisiológica conocida en la planta y que se requieren en bajas concentraciones para la supervivencia de ésta (Aubert y Pinta, 1977). También se les llama elementos menores o microelementos, refiriendo la cantidad en que usualmente se encuentran. En geología se refiere a los elementos en la biosfera que no se encuentran dentro de los ocho más abundantes (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg) y generalmente están presentes en concentraciones menores de 0.1 % en la corteza terrestre (Jenkins y Wyn, 1980), mientras que en contaminación ambiental el término elemento traza se refiere a los elementos presentes en pequeñas cantidades en sistemas naturales o perturbados y que su concentración disponible es suficiente para ser tóxicos para los organismos (Adriano, 2001). Otros autores proponen el uso del término: elementos potencialmente tóxicos (Carrillo-González, 2005), que incluye cualquier elemento (esencial o no), e inclusive metaloides o elementos ligeros, como el antimonio, los cuales en cierta concentración pueden causar daños a los organismos. En este documento se empleará el término elementos potencialmente tóxicos (EPT). Este trata, por tanto, de dar una definición de los contaminantes en mención, abordando criterios de toxicidad, independientemente de otras propiedades químicas o características geoquímicas. Los principales elementos contaminantes son: arsénico (As), plata (Ag), boro (B), bario (Ba), berilio (Be), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), flúor (F), mercurio (Hg), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plomo (Pb), antimonio (Sb), selenio (Se), estaño (Sn), talio (Tl), vanadio (V) y zinc (Zn) (Adriano, 2001). Otros autores incluyen elementos

no tan comunes, como litio (Li), rubidio (Rb), cesio (Cs), estroncio (Sr), aluminio (Al), antimonio (Sb), galio (Ga), indio (Y), escandio (Sc), germanio (Ge), titanio (Ti), zirconio (Zr), bismuto (Bi), niobio (Nb), polonio (Po) y platino (Pt) (Kabata-Pendias y Pendias, 2001).

Recientemente se han hecho revisiones del potencial contaminante y fitotóxico de otros elementos poco comunes (elementos raros), como tungsteno (W), torio (Th), cerio (Ce) (Babula *et al.*, 2008) o lantano (La) (Shan *et al.*, 2003; Lai *et al.*, 2006). Sin embargo, poco se conoce de las funciones ecofisiológicas, rutas de entrada a las plantas y criterios apropiados para definir su riesgo (van der Ent *et al.*, 2013), por lo que es necesario realizar investigaciones que ayuden a aclarar los puntos en mención. Varios de los EPT causan severos daños a los organismos del suelo y agua, así como al funcionamiento del ecosistema. Por ello, su remediación es necesaria aun cuando su concentración sea baja. A diferencia de los contaminantes orgánicos, como el dicloro difenil tricloroetano (DDT) o los plaguicidas, los EPT son inmutables; es decir, no se degradan y solo puede cambiarse su estado químico. En el suelo, la vida media de los EPT es de 150 a 500 años (Sobolov y Begonia, 2008), por lo que se dice que son virtualmente permanentes en el ambiente.

Factores de bioacumulación y translocación

Comúnmente, para la elección de especies vegetales útiles en la remediación, las variables de interés que se han utilizado son la concentración de EPT en la parte aérea y radical, y los factores de bioacumulación. De esta forma, si se opta por la fitoestabilización se recomienda que las plantas sean exclusoras de EPT (o acumulen muy bajas concentraciones) en su parte aérea. Con esto se busca que la mayor concentración de los EPT esté inmovilizada en la rizósfera (parte de influencia de la raíz) o en la raíz misma. Pero, en el caso de la fitoextracción, se sugiere que las plantas acumulen alta concentración de EPT en la parte aérea (plantas acumuladoras). Idealmente, para una extracción eficiente y económicamente reductible, las plantas deben ser hiperacumuladoras (Arthur *et al.*, 2005). Para poder clasificar a las plantas bajo este contexto, lo que se hace generalmente es determinar la concentración de EPT en la raíz y la parte aérea, así como en el suelo o residuo. A partir de esta información se pueden obtener factores de bioacumulación. Los más comunes son el factor de bioconcentración (FBC) y el de translocación (FT). El FBC es la relación de la concentración de EPT en el suelo entre la concentración en

tejido vegetal. Sin embargo, no hay acuerdo en la forma de calcularlo. Algunos autores sugieren que se tome en cuenta la concentración de EPT en la raíz (Lorestani *et al.*, 2011; Nouri *et al.*, 2011), mientras que otros —siendo la mayoría— mencionan que el FBC se calcule con la concentración en la parte aérea. Situación similar ocurre con la concentración en suelo. La mayoría de los autores emplean la concentración total, pero como es un indicador pobre de la toxicidad y riesgo de EPT, otros autores usan la concentración de EPT en la fracción disponible (Barbafieri *et al.*, 2011; Cortés-Jiménez *et al.*, 2013) o en la extraída con DTPA (Carrillo-González y González-Chávez, 2006). Con base en lo anterior se sugiere emplear la fórmula siguiente:

$$FBC = \frac{\text{Concentración de EPT en parte aérea}}{\text{Concentración de EPT disponible o extraída con DTPA en el suelo}}$$

El FT es la relación de la concentración de EPT en la parte aérea respecto a la concentración en la raíz. Si el valor de FT es menor de 1, la mayor parte del contaminante se acumula en la raíz y no se transloca (mueve) hacia la parte aérea. En este caso la planta es exclusora (Deng *et al.*, 2004). Si por el contrario el FT es mayor de 1, el contaminante se almacena principalmente en la parte aérea y no en la raíz; entonces, se trata de una planta acumuladora (Yoon *et al.*, 2006). Se menciona que cuando el FBC y el FT (ambos) son mayores de 1, la planta se clasifica como acumuladora. Si el FBC y FT son menores de 1, es una planta exclusora. Otros investigadores concluyen que el estudio de la concentración de EPT en la planta no debería ser el único factor que determine si una planta es exclusora o no (Dickinson *et al.*, 2009). En muchos casos, tal vez por confusión, acumulación e hiperacumulación se manejan como sinónimos; sin embargo, son conceptos diferentes. Como se mencionó anteriormente, las plantas hiperacumuladoras son capaces de acumular cantidades excesivas de EPT en su follaje. Erróneamente se clasifica como hiperacumuladora a aquella planta que acumula en su raíz altas concentraciones de EPT. Lo correcto es considerar la acumulación en la parte aérea de la planta. Para que se considere como tal, la acumulación de EPT en la parte aérea debe ser >1 % del peso seco de la planta (Cuadro 1) (van der Ent *et al.*, 2013).

Aunque parece sencillo aplicar los criterios de clasificación, en la realidad puede no serlo. Un intento de esquematizarlo se presenta en el Cuadro 2. Ahí se observa que cuando ambos FBC y FT, son mayores de 1, la planta es acumuladora. Si ambos valores son menores de 1 será una planta exclusora. Sin embargo, en el caso de que el FBC sea mayor de 1 y el FT menor de 1 o viceversa, ¿qué mecanismo está implicado: exclusión o estabilización?. También se menciona que con FBC mucho mayor de 1 se trata de una planta acumuladora, lo cual es una aseveración ambigua. No es lo mismo FBC de 10 que de 30; ambos son mayores de 1 y las plantas no están acumulando EPT en la misma magnitud. Retomando el ejemplo de FBC de 20, ¿dicho valor es suficiente para considerar a una planta como hiperacumuladora? Estos son cabos sueltos que permanecen en el área de investigación. Existen otros factores que pueden afectar los valores de FBC. Por ejemplo, las plantas que crecen en un suelo con deficiencia de nutrientes pueden presentar valores muy altos porque los nutrientes se absorben continuamente por ser requeridos para el metabolismo de la planta y la concentración en el suelo es muy baja, lo que resulta en alto FBC. Otros criterios que son de ayuda en el estudio de plantas con uso potencial para la fitorremediación son los umbrales de fitotoxicidad y de hiperacumulación (Cuadro 1). En el Cuadro 1 se presentaron los umbrales para algunos de los EPT más estudiados. Como ya se señaló, hay una gran cantidad de elementos que apenas comienzan a estudiarse; para estos aún no existen criterios de acumulación en plantas. Los factores de bioacumulación y los umbrales de fitotoxicidad o hiperacumulación

Cuadro 1. Criterios de clasificación de plantas de acuerdo con su concentración de EPTs en biomasa aérea.

Clasificación	Zn	Cd	Pb	Ni	Co	Cu
	mg kg ⁻¹ *					
Normal en sitios no contaminados (Alloway, 1995)	1-400	0.1-2.4	0.2-20	0.02-5	0.02-1	5-20
Fitotóxico (Vameralli <i>et al.</i> , 2010)	150-200	5-10	10-20	20-30	60-170	15-20
Hiperacumulación (Brooks, 2000)	10,000	100	1,000	1,000	1,000	1,000
Hiperacumulación Nueva propuesta (van der Ent <i>et al.</i> , 2013)	3,000	100	1,000	1,000	300	300

* Con base en peso seco

por sí solos no pueden ayudar a la determinación del comportamiento de una planta respecto a la acumulación de EPT, sino que se deben analizar en conjunto. Sin embargo, hay que mencionar que los umbrales de fitotoxicidad pueden variar y no son únicos en todas las especies vegetales.

Cabe mencionar que para evaluar la concentración de EPT es conveniente diferenciar entre suelo o residuos rizosféricos de los no rizosféricos. Las condiciones fisicoquímicas que presentan son diferentes si el material de análisis es rizosférico o no; por ejemplo, en el pH o en la concentración de EPT, por lo que el cálculo del FBC puede variar. Se recomienda tomar en cuenta los valores de suelo o residuos rizosféricos, ya que esta es el área (rizósfera) donde se llevan a cabo activamente (por la planta y microorganismos asociados) los fenómenos de absorción, precipitación y otros relacionados con los EPT (Kuiper *et al.*, 2004).

Datos de campo vs experimentos en invernadero

En la literatura existe amplia información en relación con plantas, EPT y remediación. Sin embargo, pocas investigaciones tienen bases metodológicas bien establecidas, datos experimentales robustos y que aporten conclusiones relevantes que se basen en los resultados experimentales obtenidos. En contraste, muchos artículos tienen conclusiones equivocadas porque hacen generalizaciones de experimentos cortos con suelos donde se adicionaron sales de EPT sin incubación para su estabilización; se hicieron en hidroponía, etcétera. Por ejemplo, existe investigación donde se toman hojas de una planta, estas se ponen en contacto con soluciones de ciertos EPT durante algunos minutos, se hacen análisis bioquímicos y se concluye que la planta es tolerante, que posee mecanismos de tolerancia, y se afirma que son útiles en la fitorremediación. En general, trabajos de invernadero están asociados a experimentos hidropónicos. En muchas ocasiones la solución nutritiva que se usa tiene concentraciones excesivas del elemento estudiado que no reflejan lo que sucede en el suelo, por lo que la absorción de EPT es forzada o inducida, lo que no corresponde al comportamiento real de la planta (van der Ent *et al.*, 2013). Generalmente, en estos experimentos, a las soluciones nutritivas se les adi-

ciona solo un EPT en dosis creciente; la interacción de dos o más EPT se estudia poco, mientras que en condiciones naturales simultáneamente se encuentran varios elementos contaminantes. Los reportes adolecen de considerar la interacción química de cationes y aniones, y la actividad real de los iones en la solución del suelo. Situación similar sucede con suelos contaminados artificialmente (Dickinson *et al.*, 2009). Si se realizan experimentos de invernadero es recomendable usar re-

siduos o suelos naturales o incubados adecuadamente (van der Ent *et al.*, 2013). Otra situación que puede ser problemática en experimentos hidropónicos o de adición de contaminantes al suelo es que no se tiene entendimiento claro de las reacciones probables con otros iones presentes (Adriano *et*

al., 2004), ni con otros componentes del suelo, lo que determina la forma química en que se encontrarán los contaminantes, ya sea en la fracción líquida del mismo (especiación química) o en la forma en que están distribuidos en la parte sólida del suelo (fraccionamiento). Probablemente el EPT estudiado reaccione y se forme una especie química no asimilable por la planta. De este modo, se pueden adicionar cantidades altas y reportar que la planta es tolerante, llegando a conclusiones que no corresponden a la realidad. En este tipo de experimentos es necesario realizar estudios que determinen la especiación y el fraccionamiento de EPT, después de la adición artificial de los contaminantes, para así determinar con precisión las condiciones disponibles de toxicidad a las que está expuesta la planta. Asimismo, la evaluación del efecto a los EPT suele realizarse en un punto específico del desarrollo de la planta y no se reporta el comportamiento durante su ciclo completo, por lo que no se obtiene referencia clara y completa de la capacidad que tienen las especies vegetales estudiadas para sobrevivir en ambientes contaminados a nivel de especie. Con las explicaciones anteriores no se menciona que las investigaciones llevadas a cabo en condiciones artificiales no sean válidas. Solo hay que tener cautela en la interpretación y extrapolación de los resultados, así como de las conclusiones a las que se llegan. Se prefiere la confirmación experimental usando suelos contaminados que los estudios con hidroponía. De igual manera, los suelos con adición de sales de EPT difícilmente reflejan los enriquecidos con EPT, ya sea

Cuadro 2. Criterios de clasificación de plantas por su comportamiento en la acumulación de EPT basados en el factor de translocación (FT) y el factor de bioacumulación (FB).

		FBC	
		>1	<1
FT	>1	Acumuladora (>1 hiperacumuladora)	-
	<1	-	Exclusora

en forma natural o por contaminación inducida por el hombre.

CONCLUSIONES

Existe el uso inadecuado de varios términos utilizados en la fitorremediación. Por ello, el uso de terminología estandarizada y conceptos claros es fundamental para la comunicación correcta de ideas y propuestas objetivas dentro de la comunidad científica, aún más importante al momento de transferir las tecnologías a sitios contaminados en campo para el éxito de los proyectos de fitorremediación.

LITERATURA CITADA

- Adriano D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. (2° ed). Springer Verlag. USA. 866 p.
- Arthur E.L., Rice P.J., Rice P.J., Anderson T.A., Baladi S.M., Henderson K.L., Coats J.R. 2005. Phytoremediation: an overview. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24: 109-122.
- Aubert H., Pinta M. 1977. Trace elements in soils. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. The Netherlands. 395 p.
- Babula P., Adam V., Opatrilova R., Zehnalek J., Havel L., Kizek R. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: A review. *Environmental Chemistry Letters* 6: 189-213.
- Barbafieri M., Dadea C., Tassi E., Bretzel F., Fanfani L. 2011. Uptake of heavy metals by native species growing in a mining area in Sardinia, Italy: discovering native flora for phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 13: 985-997.
- Carrillo-González R. 2005. Niveles de contaminación de los suelos y las plantas. In: González-Chávez M.C.A., Pérez-Moreno J., Carrillo-González R. (eds.). *El Sistema Planta-Microorganismo-Suelo en Áreas Contaminadas con Residuos De Minas*. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. p: 34-60.
- Cortés-Jiménez E.V., Múgica-Álvarez V., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Gordillo M.M., Mier M.V. 2013. Natural revegetation of alkaline tailing heaps at Taxco, Guerrero, Mexico. *International Journal of Phytoremediation* 15: 127-141.
- Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution* 144: 84-92.
- Deng H., Ye Z.H., Wong M.H. 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132: 29-40.
- Dickinson N.M., Baker A.J.M., Doronila A., Laidlaw S., Reeves R.D. 2009. Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11: 97-114.
- Jenkins D.A., Wyn G. 1980. Trace elements in rocks, soils, plants and animals: Introduction. In: Davies B.E. (ed.). *Applied Soil Trace Elements*. John Wiley & Sons. Avon, Great Britain. pp. 1-20.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*. (3° ed). CRC Press. Boca, USA. 432 p.
- Kuiper I., Lagendijk E.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J. 2004. Rhizoremediation: A beneficial plant-microbe interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17: 6-15.
- Li H.Y., Wei D.Q., Shen M., Zhou Z.P. 2012. Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Diversity* 54: 11-18.
- Lorestani B., Cheraghi M., Yousefi N. 2011. Phytoremediation potential of native plants growing on a heavy metals contaminated soil of copper mine in Iran. *World Academic Science Engineering and Technology* 77: 377-382.
- Nouri J., Lorestani B., Yousefi N., Khorasani N., Hasani A.H., Seif F., Cheraghi M. 2011. Phytoremediation potential of native plants grown in the vicinity of Ahangaran lead-zinc mine (Hamedan, Iran). *Environmental Earth Sciences* 62: 639-644.
- Sobolev D., Begonia M.F.T., 2008. Effects of heavy metal contamination upon soil microbes: lead induced changes in general and denitrifying microbial communities as evidenced by molecular markers. *International Journal of Environmental Research Public Health* 5: 451-460.
- Shan X.Q., Wang H.O., Zhang S.Z., Zhou H.F., Zheng Y., Yu H., Wen B.I. 2003. Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicranopteris dichotoma*. *Plant Science* 165: 1343-1353.
- Vamerali T., Bandiera M., Mosca G., 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters* 8: 1-17.
- van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat H. 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fictions. *Plant and Soil* 362: 319-334.
- Yoon J., Cao X., Zhou Q., Ma L.Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368: 456-464.

ALTERNATIVAS DE FITORREMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

PHYTOREMEDIATION ALTERNATIVES FOR SITES POLLUTED BY POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS

González-Chávez M.C.A.¹, Carrillo González R.¹, Sánchez-López A.S.¹, Ruiz-Olivares A.¹

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

*Autor de correspondencia: crogelio@colpos.mx

RESUMEN

El presente trabajo describe las principales alternativas prácticas de remediación, fundamentadas científicamente y con mayor aceptación pública. Aunque la información se enfoca a elementos potencialmente tóxicos (EPT), el conocimiento científico básico que se tiene se puede aplicar para la remediación de sitios con otros problemas de contaminación y a sitios degradados o marginales.

Palabras clave: Fitoestabilización, fitoextracción, fitominería, hiperacumulación.

ABSTRACT

This review describes the existing phytoremediation alternatives that rely on strong scientific basis and at the same time are accepted by the public in general. Although the information is focused on potentially toxic elements (PTE), the basic scientific knowledge available can be applied to the remediation of sites with other contamination problems and to deteriorated or marginal sites.

Keywords: phytostabilization, phytoextraction, phytomining, hyperaccumulation.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la fitorremediación se considera la única alternativa eco-sustentable para el tratamiento *in situ* de suelos contaminados con EPT (Barbafieri *et al.*, 2013; Vamerali *et al.*, 2010). Esta es una tecnología amigable con el ambiente, no invasiva y permite recuperar la estructura y la función del suelo. Se estima que su costo es de 10 a 100 veces más barato en comparación con los métodos físicos y químicos que se usan tradicionalmente, cuyo costo varía de 0.27 a 1.6 millones de dólares por hectárea (Kidd *et al.*, 2009). No obstante, esta tecnología depende de variables específicas del sitio a restaurar, como características del suelo, niveles de contaminación, tipo de vegetación y clima (Barbafieri *et al.*, 2013). Muchas de éstas hacen que el éxito de la fitorremediación, y por tanto, el establecimiento de cubiertas vegetales no sea siempre fácil de alcanzar (Mendez y Maier, 2008).

Alternativas de remediación

En general existen tres principales métodos de remediación de suelos: 1) físicos, que consisten en restringir el riesgo de los contaminantes por medio de la remoción o contención, 2) químicos, que intentan alterar la especiación del contaminante para aumentar su movilidad y extracción o para disminuir los riesgos de exposición (Adriano, 2001) y; 3) biológicos, que involucran el uso de plantas, microorganismos o sus productos para remover o contener contaminantes ambientales.

Físicos

Vitrificación. Consiste en calentar el suelo contaminado o residuos hasta que el contaminante se funde (2,000 °C), produciendo un material parecido al vidrio. Durante el calentamiento se presentan emisiones, por lo que se necesita un control de estos gases.

Encapsulación. Consiste en aislar el suelo contaminado o residuos, cubriéndolos con una capa de algún material impermeable, como plástico de alta densidad o en recipientes de acero o concreto.

Lavado. Involucra la mezcla y contacto del suelo contaminado o residuos con una solución acuosa (ácidos o bases diluidas, quelatos) para solubilizar los EPT y removerlos. Este proceso se repite varias veces. Después de cada lavado puede ser necesario sedimentar, centrifugar o filtrar los contaminantes. Este proceso generalmente se hace *ex situ*, aunque puede llevarse a cabo *in situ*, lo cual requiere de trabajo previo de ingeniería.

Electroquímica. Consiste en el uso de un ánodo y un cátodo separados uno del otro insertados en el suelo a tratar. A través de éstos se hace pasar corriente eléctrica que induce el movimiento de iones a su electrodo respectivo. Se necesita de un acondicionador de fluidos y de una fuente poderosa de energía eléctrica.

Químicos

Neutralización. Está técnica se basa en que la mayoría de los metales son móviles en pH bajos. Consiste en elevar el pH o, en ocasiones, disminuirlo, dependiendo del contaminante que se desea inmovilizar. Por lo general, los elementos catiónicos precipitan en medio alcalino y los que tienen varios estados de oxidación son más móviles a pH extremos.

Solidificación. Se trata de la adición de un agente cementante al suelo contaminado o residuos para producir un material endurecido, no lixiviable y no poroso.

Estos métodos, neutralización y solidificación, son llamados el alto impacto. Son de costo elevado, destructivos, generan productos, presentan riesgo de exposición del personal durante la remediación y, en varios casos, el problema de contaminación no se soluciona (González-Chávez, 2005) u ocurre solo parcialmente cuando se trata de residuos con una mezcla de contaminantes.

Estabilización. Es la adición de materiales (cal, hidroxapatita, zeolitas, arcillas) que induce la adsorción o precipitación de contaminantes. Este método ha recibido mucha atención por las ventajas que ofrece para disminuir la concentración disponible de EPT. La combinación de este método con la fitorremediación se aborda más adelante.

Es común encontrar suelos contaminados con EPT y con afectación también por sales. Ruiz-Olivares (2016) analizó un suelo altamente contaminado por Pb y conductividad eléctrica de hasta 26 dS m⁻¹. Las sales involucradas fueron sulfatos y cloruros. En relación con técnicas convencionales de remediación, la presencia de sales es factor limitante, no solo para el establecimiento de la planta, sino también debido a la interferencia de la abundancia de sales en reacciones químicas que pueden tener con los compuestos correctivos, como enmiendas, aplicados para la fitorremediación (EPA/OERR/ORD, 1997).

sario corroborar que a largo plazo la remediación sea exitosa.

El término fitotecnología se define como la aplicación de la ciencia e ingeniería para estudiar problemas y proveer soluciones donde se involucran plantas (UNEP, 2003) o como el grupo de tecnologías en las que se usa plantas para remediar o confinar la contaminación en suelos, agua superficial y mantos freáticos o sedimentos (ITRC, 2009). Más recientemente, las fitotecnologías se aplican al fitomanejo de sitios contaminados para la producción económica (Robinson *et al.*, 2009). Por tanto, las fitotecnologías no tienen como meta única la remediación del suelo (Carrillo González y González-Chávez, 2012). En este nuevo esquema la remediación se percibe como un sistema dinámico que mantiene en nivel seguro el riesgo de los contaminantes y genera ganancia económica (cultivos energéticos, pastos, productos fortificados, etcétera). Las necesidades de investigación se dirigen hacia aspectos más aplicados (González-Chávez y Carrillo González, 2013a) y, por tanto, la remediación debe manejarse como una estrategia integral.

Fitoextracción

La fitoextracción se basa en la particularidad de que algunas plantas poseen mecanismos para absorber, acumular y tolerar altas cantidades de EPT en la parte aérea. Los EPT se remueven del sitio y se considera la posterior cosecha y recuperación de los mismos (Arthur *et al.*, 2005). La concentración en las hojas se considera como la única propiedad para establecer la capacidad de las plantas para acumular EPT. Sin embargo, es necesario enfatizar que dicha concentración es de tipo estructural, dentro de las hojas, y que

Biológicos

Se basan en procesos bioquímicos naturales presentes en plantas y microorganismos, ya sea para reducir la movilidad de los contaminantes o extraerlos (Shukla *et al.*, 2010), por lo que su impacto ambiental es mínimo. Al uso de plantas para remediar sitios contaminados se le llama fitorremediación, mientras que al de microorganismos o consorcios de microorganismos, sus procesos o productos metabólicos se le ha denominado biorremediación (Juwarkar *et al.*, 2010); recientemente también se propuso el término de microrremediación (Wu *et al.*, 2010). A la combinación del uso de plantas y microorganismos se le nombra fitorremediación asistida por microorganismos. En términos estrictos, biorremediación debe ser un vocablo genérico que incluya a la fitorremediación y la microrremediación.

Fitorremediación y fitotecnologías para suelos contaminados

Las plantas participan por diferentes vías en la remediación de sitios alterados o contaminados. La fitorremediación de EPT tiene dos modalidades principales: 1) estabilización (fitoestabilización), que se refiere a mantener los EPT en la rizósfera de una planta sin translocarlos a su parte aérea. 2) extracción (fitoextracción), que implica acumulación de EPT mayormente en la parte aérea de la planta. Aunque en algunos casos, como con Hg y Se, se puede inducir la fitovolatilización, que consiste en la absorción del EPT; su conversión a una forma volátil y su posterior liberación a la atmósfera (Ali *et al.*, 2013). Poco se conoce de los riesgos que este proceso puede ocasionar al ambiente. Actualmente existe gran diversidad de términos científicos empleados en la fitorremediación y en los mecanismos involucrados. Solo por ejemplificar, la fitoexclusión se define como el uso de plantas exclusoras, es decir, con bajos valores de bioacumulación de EPT en sus tejidos (Dickinson *et al.*, 2009). Este término puede ser considerado como fitoestabilización. Otro es la fitorremoción (Campos y Pires, 2003), que puede ser sinónimo de fitoextracción. De igual modo, los de remediación y restauración son manejados indistintamente. Hay autores que sugieren que la restauración implica que el sitio en tratamiento recupere las condiciones originales antes de que fuera contaminado (Peer *et al.*, 2006). Otros investigadores lo manejan como el uso de plantas nativas (Conesa *et al.*, 2012) y el término que se plantea es de fitorestauración. Sin embargo, recuperar a las condiciones naturales es casi imposible, así que es preferible prevenir que remediar la contaminación. La fitorremediación es una alternativa no destructiva que además tiene alto valor estético; se considera una tecnología solar y tiene alta aceptación social. Se menciona que una de sus principales ventajas respecto a otras es su bajo costo. Sin embargo, en la literatura no existen estudios económicos que lo demuestren. Este aspecto representa una relevante necesidad en conocimiento que debe considerarse para confirmarla como una alternativa económica (Conesa *et al.*, 2012). Algunos sugieren que es más barata que otras alternativas fisicoquímicas (Tordoff *et al.*, 2000). Como toda tecnología, la fitorremediación también presenta algunas desventajas que deben considerarse. A pesar de que se seleccionen especies adaptadas a las condiciones del sitio contaminado, es necesario procurar mejorar las condiciones que propicien el crecimiento de las plantas (González-Chávez, 2005). Otra desventaja puede ser que el tiempo requerido para remediar resultará largo (Ali *et al.*, 2013) y es nece-

no debe considerarse aquella proveniente de partículas de polvo depositadas en la superficie de dichas hojas. No obstante, algunos autores ya consideran la función de la parte aérea de las plantas como barrera física para atrapar EPT y le han denominado fitotrampas (Sánchez-López *et al.*, 2015). La concentración de EPT presentes en la superficie de las hojas de las plantas varía con respecto a su morfología, topografía y aún es dependiente del elemento (Sánchez-López *et al.*, 2012b). Por tanto, la minuciosa preparación de las muestras para la cuantificación de EPT es de suma importancia para la correcta designación de la capacidad de acumulación en las plantas (Sánchez-López *et al.*, 2012a). El protocolo de lavado de material vegetal en la mayor parte de las investigaciones ha consistido en enjuagues con agua corriente y agua destilada. Algunos incluyen el uso de surfactantes o quelatantes. Sin embargo, se ha demostrado que a pesar de un protocolo de lavado exhaustivo que incluye todos los agentes mencionados las partículas que contienen EPT permanecen en la superficie de las hojas, lo que sobreestima la concentración de dichos elementos (Sánchez-López *et al.*, 2012a; Sánchez-López *et al.*, 2015). Al final de la década de los ochenta, el auge de la fitoextracción produjo avances importantes en el entendimiento de la fisiología e incluso en el mejoramiento genético de plantas extractoras de EPT (Garbisu y Alkorta, 2001). Los investigadores se centraron en la búsqueda continua de especies vegetales que, aunque no fueran hiperacumuladoras (ver más adelante), tuvieran cierta capacidad acumuladora que, aunada al rápido crecimiento vegetal y abundante producción de biomasa, representaran ser alternativa

económica y factible. Varios investigadores han planteado que las plantas transgénicas pueden ser una opción para cultivar plantas con mayor capacidad acumuladora de EPT; sin embargo, el costo económico y el tiempo involucrados para este fin pueden ser incosteables. El pleno conocimiento de los umbrales de concentración interna de EPT en la parte aérea de las plantas también es relevante para establecer dicha capacidad de acumulación de EPT (Cuadro 1 del artículo anterior dentro de este número).

Para incrementar la extracción también se sugirió el uso de diversas sustancias. Por ejemplo, agentes quelatantes (DTPA, EDTA, etc.) y ácidos orgánicos (Nascimento y Xing, 2006). El efecto de éstas consiste en aumentar la movilidad y disponibilidad de EPT. Sin embargo, de este modo, su mayor disponibilidad se convierte en un riesgo ambiental (Ernst, 2005) si las plantas no los absorben a la misma velocidad en la que se incrementa su disponibilidad. Lo anterior representa mayor riesgo de contaminación de aguas superficiales y mantos freáticos por arrastre superficial o lixiviación de la solución del suelo hacia los cuerpos de agua. La fitoextracción exitosa requiere la limpieza (descontaminación) del suelo a una concentración que cumpla con la regulación ambiental, siguiendo prácticas normales de cultivo sucesivo (Koopmans *et al.*, 2008). En teoría, esto se logra con el cultivo repetido de plantas de ciclo corto, con rápida y alta producción de biomasa (Garbisu y Alkorta, 2001). Sin embargo, la práctica demuestra que en suelo con altas concentraciones de EPT este proceso puede requerir numerosos años para lograr la descontaminación a niveles aceptables. También se requiere de prácticas de manejo agronómico para incrementar la producción de biomasa. Por ejemplo, la fitoextracción estaría limitada en sitios contaminados con residuos de mina con concentraciones altas de EPT, debido a su alta toxicidad al acumularse en la parte aérea. Otro factor limitante es que la mayoría de las plantas no muestran tolerancia a diversos EPT (Miransari, 2011). Usualmente son tolerantes a uno o dos elementos, por lo que su crecimiento se dificulta en medios contaminados por varios de éstos.

Existen muy pocos ejemplos que demuestren el éxito de la fitoextracción en ensayos de campo o en operaciones comerciales. Una muestra de ello es el uso de plantas genéticamente modificadas de *Brassica juncea* L. Este es uno de los pocos casos de la aplicación en campo de la fitoextracción de Se (Bañuelos *et al.*, 2005). Sin embargo, al igual que los alimentos genéticamente modificados, el principio de precaución, los aspectos legales, éticos y de seguridad ecológica deben considerarse, así como aceptación pública, antes de su amplia implementación. El desarrollo de la fitoextracción debe considerar algunos aspectos para llevarse a la práctica: 1) tratamiento de la biomasa vegetal para recuperar los EPT acumulados (Arthur *et al.*, 2005). En este proceso, el EPT se transfiere del suelo a la planta para posteriormente recuperarlo de ésta. Finalmente, los EPT pueden reutilizarse; de lo contrario, éstos tienen que confinarse en otro sitio (Ernst, 2005) lo cual, de no hacerse adecuadamente, mantiene el riesgo de exposición (Ghosh y Singh, 2005); 2) falta de conocimiento de prácticas agronómicas para plantas tolerantes y acumuladoras; 3) riesgos de acumulación de contaminantes en la cadena alimenticia; 4) aceptación social e institucional por el uso de plantas transgénicas.



Hiperacumulación

El término hiperacumulación ha sido excesivamente utilizado con diversos grados de precisión, propiedad y entendimiento (van der Ent *et al.*, 2013). Inicialmente se aplicó para especies vegetales que tenían la habilidad de acumular y tolerar altas concentraciones de EPT, entre 10 y 100 veces más que cultivos normales (plantas hiperacumuladoras). La primera publicación se reportó en especies de *Thlaspi* en 1885, con acumulación excesiva de Zn y en *Alyssum bertolonii* en 1948, con más de 10,000 mg kg⁻¹ (1 %) de Ni de peso seco aéreo. A partir de entonces, numerosas investigaciones se han dirigido para la identificación de especies vegetales hiperacumuladoras. Para la definición de especies hiperacumuladoras se deben estudiar las poblaciones vegetales naturales (en campo) y corroborar los hallazgos en invernadero, utilizando los mismos suelos contaminados, ya que estudios independientes en hidroponía y con suelos artificialmente contaminados con EPT (usualmente adicionando sales de EPT) no reflejan condiciones reales que pueden influir en la hiperacumulación. Además, la adición de EPT usualmente implica que el elemento esté en mayores concentraciones a las observadas en suelos. La información que se tiene de la confirmación experimental de plantas hiperacumuladoras solo involucra elementos como: Ni, Zn, Cd, Mn, As y Se, pero no se ha confirmado para el caso de Pb, Cu, Co, Cr y Tl. Finalmente, se requiere de evaluación crítica para los elementos raros (van der Ent *et al.*, 2013), los cuales están considerados en estudios muy recientes. El mecanismo de hiperacumulación implica alta tolerancia específica a EPT. Las plantas hiperacumuladoras, también llamadas metalofitas, generalmente son endémicas de áreas contaminadas, presentan lento crecimiento y poca producción de materia vegetal (Arthur *et al.*, 2005), lo cual en cierta manera restringe su amplio uso y aplicación.

Fitominería

Un caso específico de la fitoextracción, pero visto con fines económicos, es la fitominería. En años recientes se ha planteado el potencial de dicha tecnología para ciertos elementos de valor económico, como lo es el oro (Au) (Anderson *et al.*, 2011, Wilson-Corral *et al.*, 2012). También se ha utilizado comercialmente para la fitominería de Ni. El incremento de su precio en el mercado, los reportes de acumulación y el rendimiento en biomasa de diferentes plantas son la base para sugerir que la fitominería de Au es una tecnología económicamente viable. Si tan solo 100 mg de Au se extraen por kg de materia seca, esto sería suficiente para hacer esta tecno-

logía redituable (Wilson-Corral *et al.*, 2011). La fitominería también puede ser aplicable a Ag, Tl y Ni. Sin embargo, la tecnología permanece limitada a ciertos factores ambientales y fisiológicos de las plantas. Presenta también una problemática similar expuesta anteriormente en la fitoextracción, el manejo de residuos y posible daño al suelo tratado con sustancias que favorezcan la solubilización de elementos para su mayor absorción por las plantas. Como mencionado anteriormente, hay una aceptación y cambio progresivo del uso de la fitoextracción por la fitoestabilización. También, porque la mayoría de las plantas que crecen en sitios contaminados no son acumuladoras, mucho menos hiperacumuladoras, sino más bien la mayoría de las plantas se comportan como exclusoras de EPT.

Fitoestabilización

La fitoestabilización involucra la retención o inmovilización de EPT por especies vegetales. La anterior definición involucra el uso o no de enmiendas (Czupryna *et al.*, 1989, ver más adelante en este número). La concentración de EPT no disminuye, sino que su movilidad y disponibilidad se controlan, previniendo así los riesgos a la salud humana, así como los ambientales (Arthur *et al.*, 2005). Las plantas pueden inmovilizar EPT en su rizósfera, precipitándolos o formando complejos, absorberlos en el interior y adsorbiéndolos en la superficie de la raíz (Vangronsveld *et al.*, 2009). La disponibilidad de los EPT se restringe a niveles aceptables (Arthur *et al.*, 2005). La accesibilidad de los EPT se mantiene en el suelo a menos que se formen capas superiores de suelo o materia orgánica. Debido a que la fitoestabilización no remueve EPT del suelo, es imperativo implementar un programa de monitoreo a largo plazo para asegurar que se mantiene reducción en la movilidad y disponibilidad del EPT. Recientemente, algunos autores llaman a esto monitoreo ecológico a largo plazo y debe ser analizado al menos durante diez años (Lindenmayer y Likens 2010). Lo anterior es necesario para conducir un análisis de riesgo ambiental para predecir riesgo potencial a la salud humana o al ambiente; sin duda, el costo económico asociado a este programa de monitoreo debe considerarse cuando se calcule la efectividad del proceso de fitoestabilización. La adsorción en la materia orgánica implica un proceso de liberación cuando ésta se oxide. Asimismo, el uso de plantas exclusoras es la base de la fitoestabilización. Recientes revisiones y estudios muestran que la fitoestabilización tiene mayor aplicación que la fitoextracción en sitios altamente contaminados. El establecimiento de una cubierta vegetal, a

través de la fitoestabilización, bien desarrollada, reduce la dispersión de EPT (Vangronsveld *et al.*, 2009). Sin embargo, se menciona que es una solución temporal (Ali *et al.*, 2013). Las condiciones ambientales pueden alterar las características físicas, químicas y biológicas del suelo o residuos y liberar los contaminantes nuevamente. No se tiene información respecto al tiempo que los EPT pueden permanecer estables en la rizósfera o en la raíz de la planta.

Fitorremediación multipropósito

Durante mucho tiempo, el único objetivo de la remediación ha sido la eliminación o inmovilización de los contaminantes. Poco se ha pensado acerca de la posible utilidad de los sitios contaminados. El aprovechamiento de los sitios contaminados, así como los suelos marginales, infértiles y degradados, representan una opción no solo de fitorremediación, sino un aprovechamiento multipropósito. Para que la fitorremediación pase de ser una tecnología prometedora a una con amplia aplicación debe vincularse a la obtención de algún producto de valor económico y social, además del ambiental; por ejemplo, la producción de materia prima con aplicación en la bioenergía, productos biofortificados, cultivos de aplicación industrial, servicios ambientales y áreas de esparcimiento, etcétera (González-Chávez y Carrillo González, 2013b; Ruiz-Olivares *et al.*, 2016; Conesa *et al.*, 2012). Probablemente, tomando en cuenta las alternativas mencionadas, se podrá lograr que la fitorremediación sea vista como una verdadera opción por parte de las autoridades y de la sociedad. Una investigación pionera muestra que en sitios altamente contaminados, donde se desarrolla la remediación natural, es posible obtener productos de interés bioenergético. En diferentes áreas con problemas de contaminación con residuos mineros conteniendo altas concentraciones de EPT se observó la producción de semillas de *Ricinus communis* (ricino o higuera), con alta producción de aceite (40-64%) (Ruiz-Olivares *et al.*, 2013), el cual podría emplearse en la elaboración de biocombustibles. La investigación futura debe plantear las directrices prioritarias para obtener el mayor beneficio ambiental, social y económico por la combinación de la fitorremediación con servicios ambientales y manejo multipropósito de los sitios contaminados.

CONCLUSIÓN

La fitorremediación es una tecnología aplicable en el tratamiento de suelos contaminados con EPT. Por ello, es necesario estudiar las propiedades

físicas y químicas específicas del suelo a tratar, para así elegir el procedimiento más adecuado a usar. En la fitoextracción pueden utilizarse plantas que acumulen concentraciones altas de un EPT de interés para que éste se aproveche posteriormente. La fitoestabilización es una de las alternativas de mayor uso el tratamiento de suelos contaminados. Los EPT se mantienen en el sitio tratado, pero su riesgo ambiental disminuye al estar en formas químicas menos disponibles. La fitominería es útil para extraer metales preciosos a través de plantas. Así, la fitorremediación es una alternativa que puede utilizarse también para agua y lixiviados contaminados. Además, puede vincularse con los servicios ambientales, tales como la captura de carbono, producción de biomasa y prevención de la erosión, entre otros.

LITERATURA CITADA

- Adriano D. C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals (2° ed). Springer Verlag. USA. 866 p.
- Ali H., Khan E., Anwar M. 2013. Phytoremediation of heavy metals: Concepts and applications. Chemosphere 91: 869-881.
- Anderson C., Brooks R.R., Stewart R.B., Simcock R. 1998. Harvesting a crop of gold in plants. Nature 395: 553-554.
- Arthur E.L., Rice P.J., Rice P.J., Anderson T.A., Baladi S.M., Henderson K.L., Coats J.R. 2005. Phytoremediation: an overview. Critical Reviews in Plant Sciences 24: 109-122.
- Bañuelos G., Terry N., Leduc D.L., Pilon-Smits E.A.H., Mackey B. 2005. Field trial of transgenic Indian mustard plants shows enhanced phytoremediation of selenium-contaminated sediment. Environmental Science and Technology 39: 1771-1777.
- Barbafieri M., Dadea C., Tassi E., Bretzel F., Fanfani L. 2011. Uptake of heavy metals by native species growing in a mining area in Sardinia, Italy: discovering native flora for phytoremediation. International Journal of Phytoremediation 13: 985-997.
- Campos V., Pires M.A.F. 2003. Phytoremoval of arsenic from soil. Communications in Soil Science and Plant Analysis 358: 2137-2146.
- Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A. 2012. Aplicación de fitotecnologías en suelos. XXXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zacatecas. 11-16 nov 2012.
- Conesa H.M., Evangelou M.W.H., Robinson B.H., Schulin R. 2012. A critical view of current state of phytotechnologies to remediate soils: still a promising tool? The Scientific World Journal. Article ID 173829.
- Czupryna G., MacLean A.I., Levy R.D., Gold H. 1989. In situ immobilization of heavy-metal-contaminated soils. Noyes Data Corporation, Park Ridge, NJ, USA.
- Dickinson N.M., Baker A.J.M., Doronila A., Laidlaw S., Reeves R.D. 2009. Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. International Journal of Phytoremediation 11: 97-114.
- Ernst W.H.O. 2005. Phytoextraction of mine wastes: Options and impossibilities. Chemie der Erde, 65S1: 29-42.
- EPA (Environmental Protection Agency)/ OERR (Office of Emergency and Remedial Response)/ ORD (Office of Research and Development). 1997. Technology Alternatives for the Remediation of Soils Contaminated with As, Cd, Cr, Hg and Pb.



- Garbisu C., Alkorta I. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology* 77: 229-236.
- González-Chávez, M.C.A. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *TERRA Latinoamericana* 23: 29-37.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R. 2013a. Tolerance of *Chrysanthemum maximum* to heavy metals: the potential for its use in the revegetation of tailings heaps. *Journal of Environmental Sciences* 25: 367-375.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo González R. 2013b. Enlazando fitorremediación de sitios contaminados y secuestro de carbono como servicio ambiental. IV Simposio Internacional del Carbono en México. 20-24 de mayo del 2013. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco edo. de México.
- Ghosh M., Singh S.P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Asian Journal on Energy and Environment* 6: 214-231.
- ITRC (Interstate Technology and Regulatory Cooperation). 2009. Phytotechnology technical and regulatory guidance and decision trees. Revised Technical/Regulatory Guidance Interstate Technology & Regulatory Council Phytotechnologies. U.S. 204 p.
- Juwarkar A.A., Singh S.K., Mudhoo A. 2010. A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 9: 215-288.
- Kidd P., Barcel J., Berna, M.P., Navari-Izz, F., Poschenriede, C., Shile, S., Clement R., Monteroso C. 2009. Trace element behaviour at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany* 67: 243-259.
- Koopmans G.F., Römkens P.F., Fokkema M.J., Song J, Luo Y.M., Japenga J., Zhao F.J. 2008. Feasibility of phytoextraction to remediate cadmium and zinc contaminated soils. *Environmental Pollution* 156: 905-914.
- Lindenmayer D.B., Likens G.E. 2010. *Effective Ecological Monitoring*. CSIRO Publishing and Earthscan. 170 pp.
- Mendez M.O., Maier R.M. 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments: an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives* 116: 278-283.
- Miransari M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances* 29: 645-653.
- Nascimento C.W.A., Xing B. 2006. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia agricola* 63: 299-311.
- Peer W.A., Baxter I.R., Richards E.L., Freeman J.L., Murphy A.S. 2006. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Topics in Current Genetics* 14: 299-340.
- Robinson B.H., Bañuelos G., Conesa H.M., Evangelou M.W.H., Schulin R. 2009. The phytomanagement of trace elements in soil. *Critical Reviews in Plant Sciences* 28: 240-266.
- Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Soto-Hernández R.M. 2013. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management*. 15: 316-323.
- Ruiz-Olivares A. 2016. Esquema de fitorremediación de un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. México.
- Sánchez-López A., González-Chávez M.C., Carrillo-González R. 2012a. Plants growing on mine tailings avoid dispersion and contribute to stabilization of potentially toxic elements. 9th International Phytotechnologies Society. Hasselt, Belgium.
- Sánchez-López A., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R. 2012b. Particle deposition containing metal son vegetation growing around a tailing mine in Hidalgo, México. *Urban Environmental Pollution Conference*. Amsterdam.
- Sánchez-López A.S., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Rosas-Saito G.H., Vangronsveld J. 2015. Phytobarriers: Plants capture particles containing potentially toxic elements originating from mine tailings in semiarid regions. *Environmental Pollution* 205: 33-42.
- Shukla K.P., Singh N.K., Sharma S. 2010. Bioremediation: developments, current practices and perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal GEBJ*-3.
- Tordoff G.M., Bake, A.J.M., Willis A.J. 2000. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere* 41: 219-228.
- UNEP (United Nations Environment Programme). 2003. *Freshwater management series no. 7 Phytotechnologies: A technical approach in environmental management*.
- Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemical Letters* 8: 1-17.
- van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat, H. 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloids trace elements: Facts and fictions. *Plant Soil* 362: 319-334.
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M. 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 765-794.
- Wilson-Corral V., Anderson C., Rodriguez-Lopez M., Arenas-Vargas M., Lopez-Perez J. 2011. Phytoextraction of gold and copper from mine tailings with *Helianthus annuus* L. and *Kalanchoe serrata* L. *Minerals Engineering* 24: 1488-1494.
- Wu G., Kang H., Zhang X., Shao H., Chu L., Ruan C. 2010. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *Journal of Hazardous Materials* 174: 1-8.

FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA CON ENMIENDAS Y FITOESTABILIZACIÓN DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

PHYTOREMEDIATION AIDED BY AMENDMENTS AND PHYTOSTABILIZATION OF POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS

Carrillo-González R.^{1*}; Perea-Vélez Y.S.¹; González-Chávez M.C.A.¹

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

*Autor de correspondencia: crogelio@colpos.mx

RESUMEN

Los procesos naturales, como la remediación natural o la atenuación natural para controlar la contaminación con elementos potencialmente tóxicos (EPT) pueden tomar mucho tiempo (años) para llegar a un estado de equilibrio. En general, los suelos contaminados con EPT presentan limitaciones físicas, químicas y biológicas para el establecimiento y desarrollo de las plantas. En esta situación, la remediación inducida por el hombre reduce el período de su recuperación. Una alternativa para ayudar en este proceso consiste en adicionar enmiendas y reintroducir microorganismos simbióticos benéficos para las plantas. A esta alternativa se le conoce como fitorremediación asistida o inducida. En este trabajo se resumen las prácticas de manejo de enmiendas que pueden tener alto impacto positivo en la fitorremediación.

Palabras clave: alternativas de remediación, residuos de minas.

ABSTRACT

Natural processes, such as natural remediation or natural attenuation to control contamination with potentially toxic elements (PTE), can take very long time (years) to achieve a state of equilibrium. In general, soils polluted with PTE have physical, chemical and biological limitations for establishment and development of plants. However, man aided remediation reduces the soil recuperation period. An alternative to help in this process consists in adding amendments and reintroducing symbiotic microorganisms that are beneficial for plants. This alternative is known as aided phytoremediation or induced phytoremediation. In this study, amendments management practices with possible high positive impact on phytoremediation are summarized.

Keywords: remediation alternatives, mine residues.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 15-20.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.

INTRODUCCIÓN

Inmovilización de EPT

Las técnicas de estabilización incluyen el uso de enmiendas que inmovilizan EPT, las cuales se clasifican como alternativas suaves o gentiles. La estabilización de EPT se logra mediante la aplicación de enmiendas al suelo o a los residuos con altas concentraciones de estos contaminantes. Enmienda se refiere a la incorporación de materiales que intervienen en los procesos fisicoquímicos de los EPT en el suelo. La técnica también se conoce como inmovilización *in situ* de EPT, inactivación de EPT o estabilización agronómica. Las enmiendas pueden adsorber, precipitar, modificar la especiación (forma química del contaminante) y formar complejos con los EPT (Adriano *et al.*, 2004). También alteran sus propiedades físicas y químicas, por lo que disminuyen la transferencia de EPT a niveles tróficos superiores (Vangronsveld y Cunningham, 1998). En varios casos, el manejo previo de enmiendas en suelos contaminados permite el establecimiento de una cubierta vegetal (Vangronsveld *et al.*, 2009), por lo que puede asociarse a la fitoestabilización.

Uso de enmiendas para estabilizar EPT

La estabilización química de EPT a través de enmiendas se ha considerado como una alternativa viable y económica para la remediación de suelos o sustratos contaminados con EPT. Ésta tiene la ventaja de que se puede aplicar tanto *in situ* como *ex situ* (Galende *et al.*, 2014). Su objetivo es reducir la disponibilidad y movilidad de los EPT en el suelo o sustrato contaminado. En el caso de los residuos de mina, la adición de enmiendas permite hacer un preacondicionamiento del residuo al bajar su toxicidad y mejorar sus propiedades físicas y químicas, para posteriormente introducir plantas (Córdova *et al.*, 2011). Las enmiendas también aceleran los procesos de inmovilización que incluyen: sorción, precipitación, complejación y reacciones redox (Houben *et al.*, 2012). Sin embargo, también se puede incrementar la solubilidad de algunos componentes tóxicos (Hernández-Soriano y Jiménez-López, 2012), por lo que antes de su aplicación a larga escala es necesario realizar pruebas piloto con evaluación a través del tiempo. Entre las enmiendas que más se han investigado están los fosfatos (Adriano *et al.*, 2004), calcita, dolomita, cenizas (Ulmanu *et al.*, 2007), arcillas, óxidos (Komárek *et al.*, 2013), hidróxidos y zeolitas (Vangronsveld *et al.*, 2009), entre otras. La adición de materiales orgánicos también se ha analizado como enmiendas útiles en la estabilización de EPT, como el caso de estiércol, compost, vermicompost (Park *et al.*, 2011; Carrillo-González *et al.*, 2014) y biochar (Beesley *et al.*, 2011; González-Chávez *et al.* 2016). De igual manera, la combinación de enmiendas solas o con inoculación de microorganismos benéficos han sido analizadas por diversos investigadores (González-Chávez *et al.*, 2013; Perea-Vélez *et al.*, 2015; González-Chávez *et al.*, 2016; Cuellar-Sánchez 2016). Los estudios que se lleven a cabo con enmiendas deben considerar el tiempo de estabilización, así como dirigir la atención a efectos de largo plazo o programas piloto en condiciones de campo. Para la selección de una enmienda se debe considerar que el proceso de adsorción puede ser reversible (González-Chávez *et al.*, 2016) y que, aun si los EPT se precipitan o adsorben, existe la posibilidad de que se disuelvan o liberen nuevamente. Esto va a depender de las condiciones físicas, químicas y biológicas prevalecientes en el suelo contaminado y

la enmienda adicionada. Vangronsveld *et al.* (2009) recomiendan que la evaluación de enmiendas incluya un tratamiento testigo y un suelo no contaminado para evitar efectos colaterales, como la inmovilización de elementos nutritivos. La enmienda debe producirse abundantemente y no tener problemas de adquisición en la zona donde se pretende aplicar, además de tener bajo costo (Adriano *et al.*, 2004). Para que ésta y otras alternativas puedan adoptarse en campo, fuerte conocimiento teórico, observado en el laboratorio o invernadero, debe demostrarse en el campo bajo programas a gran escala y ganar aceptación en cuanto a regulaciones legales. En una evaluación adecuada de la efectividad de la fitoestabilización y enmiendas, además de vigilar la concentración de EPT en planta, es recomendable incluir organismos de varios niveles tróficos, así como el monitoreo del aumento de la biodiversidad como parámetro de la inmovilización de EPT (Vangronsveld *et al.*, 2009). Durante los últimos años se ha propuesto una diversidad de enmiendas para la estabilización *in situ* de EPT (Lee *et al.*, 2009). El Cuadro 1 lista algunas de las enmiendas que se recomiendan y que han tenido éxito en la estabilización de Al, As, Cr, Cu, Pb, Mn, Mo, Ni y Zn. Las que comúnmente se usan incluyen compuestos fosfatados, carbonatos, óxidos de Fe y Mn, diversos materiales orgánicos (Cuadro 2) y aluminosilicatos. En el Cuadro 2 se observa que el uso de enmiendas se ha probado para adsorber EPT en soluciones conteniendo estos contaminantes, por lo que podría sugerirse como biosorbente para la limpieza de aguas contaminadas. De igual forma se muestran estudios exitosos en suelos artificialmente contaminados con EPT pero, sin

duda, los resultados más prometedores son los obtenidos con suelos contaminados y con residuos de mina, pues representan problemas reales y muchas veces con más de un EPT, como contaminante. Los cuadros muestran que aparentemente se tiene amplia gama de materiales que pueden usarse para reducir la disponibilidad de EPT. Sin embargo, es necesario hacer pruebas de su efecto en los materiales a estabilizar, y considerar siempre abatir costos y tiempos de respuesta. Es importante resaltar que los resultados obtenidos después de la aplicación de una enmienda dependen de las propiedades del suelo, sustrato o residuo de mina y de la capacidad de adsorción de la enmienda (Barbafieri *et al.*, 2013; Houben *et al.*, 2012). En algunos casos se ha reportado mayor disponibilidad de algunos elementos después de la adición de dichas enmiendas (González-Chávez *et al.*, 2016; Hernández-Soriano y Jiménez-López 2012, Zhang y Zhang 2010).

No se puede estandarizar y generalizar el proceso de estabilización química de EPT a través de enmiendas,

dado que este proceso depende de las condiciones ambientales, así como de las propiedades, tanto del suelo como de la enmienda. A continuación se listan algunas recomendaciones para la elección de enmiendas.

- ▲ Evaluar y comparar precios de las enmiendas con la duración de su efectividad (Barbafieri *et al.*, 2013).
- ▲ La enmienda debe inmovilizar rápidamente EPT después de su aplicación sin necesidad de tratamientos adicionales (Miller y Miller, 2007).
- ▲ Evitar que el material ocasione amplias fluctuaciones de pH y la movilización de uno o más EPT (Kumpiene *et al.*, 2008).
- ▲ Considerar el efecto sinérgico que algunos EPT de carga opuesta pueden tener. Dicho efecto puede aumentar la capacidad de retención de los materiales (Kumpiene *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Enmiendas propuestas para la inmovilización *in situ* de EPT (modificado de EPA, 2007).

Contaminante	Enmiendas	Observación
Al	Materia orgánica y P, yeso mineral u otra fuente de Ca altamente soluble	A pH ≤ 5.5 es tóxico. Bajo contenido de P aumenta la toxicidad. Alto contenido de Ca disminuye la toxicidad
As	Materia orgánica, óxidos de Fe, Mn y Al; sulfatos de Fe con CaO, Fe ⁰ , goetita con sulfato de Fe(II), nanopartículas de Fe ⁰ , materiales arcillosos como limonita y bentonita	A pH ≥ 8 es tóxico. El P en alta concentraciones solubiliza el As
CrO ₄ ²⁻	Reductores como: materia orgánica y biosólidos	A pH ≥ 8 , CrO ₄ ²⁻ es tóxico. Esto debido a que la adición de materiales alcalinos promueve la oxidación del Cr(III) a Cr(VI). Por lo que se recomienda acidificar el suelo a pH <6.5
Cu	Carbonatos, fosfatos, materia orgánica y materiales adsorbentes como la paligorsquita	A pH ≤ 5.5 , Cu es más tóxico y móvil. Bajo contenido de materia orgánica causa toxicidad. Se recomienda ajustar pH a 6-7
Pb	Hidroxiapatita, roca fosfórica, sales de fosfatos, fosfato de diamonio, ácido fosfórico. Compuestos alcalinos como Ca(OH) ₂ , CaCO ₃ , CaO, cenizas, biosólidos, compost, yeso y fosfoyeso, óxidos de Fe y Mn (en caso de presencia de As)	Bajo contenido de P aumenta la toxicidad del Pb. Se sugiere aumentar pH entre 6 y 8. Si hay presencia de As elevar pH entre 5.5-6
Mo	Añadir Cu	A pH ≥ 8 , Mo es más tóxico. Se recomienda ajustar pH ente 5.5-6.5. Bajo contenido de Cu promueve toxicidad de Mo.
Ni	P, materia orgánica y materiales adsorbentes	A pH ≤ 5.5 , Ni es más tóxico. Se sugiere incrementar pH entre 7-8. Bajo contenido de P es más tóxico
Zn	Materia orgánica, óxidos de Fe y Mn, arcillas como: paligorquita, sepolita	A pH ≤ 5.5 Zn es más tóxico. En bajo contenido de P, el Zn es más tóxico. Incrementar pH entre 7-8.

**Cuadro 2.** Enmiendas orgánicas para la inmovilización de EPT (modificado de Park *et al.* 2011).

Enmienda	Sistema	Observaciones
SOLUCIONES ACUOSAS CON		
Fibra de coco tratada con peróxido de hidrógeno	Ni y Zn	Adsorción de EPT
Carbón activado de fibra de coco (tamaño de partícula entre 250 y 500 μm)	Cd	Adsorción de Cd a pH 5
Rastrojo de soya tratado con ácido cítrico	Cu	Adsorción de Cu, mayor cuando el pH de la solución aumentó de 2 a 6
Fibras de cáñamo	Pb, Cd y Zn	Adsorción de EPT
Cáscara de coco molida	Cd	Adsorción de Cd (285.7 mg g ⁻¹)
Residuos de semilla de olivo	Pb, Ni, Cd	Adsorción máxima de Cd, Pb, Ni, y Cu fue 68.8, 44.7, 36.3 y 31.9 mmol kg ⁻¹ , respectivamente
Carbón activado	Cu y Pb	La adsorción de Cu ²⁺ varió de 44 a 95 mmol kg ⁻¹ y de 20 a 44 mmol kg ⁻¹ para Pb
Cáscara de café y residuos de pulpa, vermicompost y estiércol vacuno	Pb	Vermicompost y estiércol vacuno remueven 98% del Pb en la solución. El Pb precipita, formando óxidos de Pb (PbO) y PbFe
AGUAS RESIDUALES		
Vermicompost	Aguas contaminadas con Zn	Menor disponibilidad de Zn
SUELOS ARTIFICIALMENTE CONTAMINADOS		
	Contaminante	
Biosólidos, inóculante microbiano	As, Cr y Zn	Reducción en la absorción de EPT en <i>Jatropha curcas</i> , cuando sólo se adicionó biosólidos y en combinación con el inóculante
Compost	Cd	Disminución 70% de Cd intercambiable
Compost de estiércol de aves	Cd	Hubo cambio de la fracción de Cd soluble e intercambiable (47.8%) a Cd unido a la fracción orgánica (69.8%). Disminuyó la absorción de Cd en plantas de <i>Brassica chinensis</i> L. (de 56% a 63%) en comparación con el tratamiento testigo
SUELOS CONTAMINADOS		
Compost	Suelos agrícolas contaminados con Pb	Menor disponibilidad de Pb por aumento del pH del suelo
Abonos orgánicos	Suelos contaminados con Mn, Cr y Ni	Menor absorción de Mn, Cr y Ni en plantas de arroz
Biosólidos	Suelos contaminados con Cu y Cr	Reducción de la disponibilidad de Cu y de Cr(VI)
Lodos de biosólidos municipales, desechos forestales, ceniza de madera, pulpa de papel, compost	Suelos urbanos contaminados con Zn, Pb y Cd	Disminución de la acidez y concentración extractable de Zn (con Ca(NO ₃) ₂). Restauración de cubierta vegetal
RESIDUOS DE MINA		
	Contaminante	
Cenizas, biosólidos	Cd, Pb y Zn	Reducción de la concentración de Cd, Pb y Zn en la solución del suelo y la fracción extractable con NH ₄ NO ₃
Biochar de residuos de poda de huertos (3%), biochar de estiércol (1.5%), pellets de árboles de abeto	Cd y Pb	Biochar de estiércol redujo la absorción de Cd y Pb en plantas de <i>Anthyllis vulneraria</i> , <i>Noccaea rotundifolium</i> . Biochar de residuos de huerto disminuyó la absorción de Cd en plantas de <i>Anthyllis vulneraria</i> , <i>Noccaea rotundifolium</i> y <i>Poa alpina</i>
Lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, compost de residuos sólidos urbanos, compost de residuos de jardín	Cu, Pb y Zn	Reducción de la concentración extractable (con CaCl ₂ , 0.01M) de Cu, Zn y Pb

Cuadro 2. Enmiendas orgánicas para la inmovilización de EPT (continuación).

Enmienda	Sistema	Observaciones
Bonote de coco (20%), compost de residuos verdes y corteza de madera (10%)	Pb, Cu y Zn	Menor disponibilidad de Cu, Pb, y Zn. Mayor biomasa en comparación con el suelo no enmendado
Desperdicios de jardinería, abono derivado de residuos sólidos urbanos	As, Cu y Pb	Menor absorción de EPT en plantas de <i>Agrostis capillaris</i> a través de la unión de éstos elementos con la materia orgánica
Compost de olivo y estiércol de vaca, biochar producido a partir de residuos de huertos (10%)	Cd, Pb y Zn	Biochar redujo la concentración de Cd, Pb y Zn después de 4 semanas de incubación. Mayor germinación de <i>Lolium perenne</i> (de 16% a 37%) en comparación con el tratamiento testigo. Reducción de la toxicidad en <i>Vibrio fischeri</i> con el tratamiento compost y carbón (5% v/v)
SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DEL RECICLAJE DE BATERÍAS DE AUTOMÓVIL		
	Contaminante	
Vermicompost, vermicompost+aserrín	Pb, Cu y sulfatos	Siete especies forestales se establecieron y lograron supervivencia de entre 80 - 100% (Ruiz-Olivares <i>et al.</i> , 2016)
Vermicompost+aserrín+hongos arbusculares	Pb, Cu y sulfatos	Se redujo la concentración extractable de Pb. La inoculación el hongo micorrízico <i>Acaulospora</i> sp., disminuyó en más de tres veces la concentración Pb en la parte aérea (Cuellar-Sánchez <i>et al.</i> , 2016).

▲ Tomar en cuenta el efecto antagónico, la aplicación de una enmienda puede reducir la biodisponibilidad de un EPT, pero aumentar la de otro EPT (EPA, 2007; Kumpiene *et al.*, 2008). Por ejemplo, si se tiene un suelo contaminado con Pb y As, una solución es la aplicación de P, lo cual permitiría reducir la biodisponibilidad del Pb. No obstante, esto ocasionaría aumentar la solubilidad del As. En este caso, la elección de la enmienda depende de los EPT y el riesgo que cada uno representa (EPA, 2007).

▲ Es posible aplicar la combinación de dos enmiendas. Por ejemplo, Beesley *et al.* (2014) mostraron que la adición de biochar con compost (10% v/v) puede reducir la toxicidad de Pb, Cd y Zn. Asimismo, se aumentó el porcentaje de germinación de *Lolium perenne*.

Además de la inmovilización de EPT, las enmiendas pueden modificar propiedades químicas del suelo como pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, y físicas, tales como retención de humedad, densidad aparente del suelo e incluso color (EPA, 2007).

Estudios más recientes se relacionan con el uso de enmiendas para remediar sitios contaminados con residuos del reciclaje de baterías de automóviles, los cua-

les contienen elevadas concentraciones de Pb y Cu, así como de sales. Los resultados muestran que el uso de vermicompost y aserrín, solos o con inoculación con hongos micorrízico arbusculares, resulta en una enmienda orgánica muy eficiente para el crecimiento de plantas de interés forestal o bioenergético (Ruiz-Olivares 2016 y Cuellar Sánchez 2016). Cuellar-Sánchez (2016) demostró que el uso de vermicompost disminuyó tres veces la concentración extractable de Pb en el suelo. La concentración inicial fue 6,246 mg kg⁻¹ y a los 15 meses de establecidas plantas de *Ricinus communis* la concentración rizosférica (en el área radical) fue 2,837 mg kg⁻¹. Ruiz-Olivares (2016) estudió el uso de dos enmiendas (vermicompost solo y en mezcla con aserrín) en el establecimiento de siete especies arbóreas en un suelo contaminado con residuo de baterías de automóvil con altas concentraciones de Pb, Cu y sulfatos. Todas las especies vegetales fueron capaces de sobrevivir y se establecieron exitosamente a pesar de las hostiles condiciones tóxicas del Pb en el suelo contaminado y la salinidad. *Acacia farnesiana* y *Casuarina equisetifolia* fueron las especies con mejor respuesta, considerando su supervivencia, grado de crecimiento y acumulación de EPT en la parte aérea. En general, la mezcla de vermicompost con aserrín se comportó mejor que el vermicompost solo.

CONCLUSIÓN

La fitorremediación asistida con enmiendas y microorganismos ha demostrado ser efectiva en suelos contaminados con EPT. No obstante, es necesario estudiar a detalle las condiciones físicas y químicas del suelo a tratar, así como la presencia de EPT en específico para determinar qué enmienda se puede aplicar para obtener los mejores resultados de fitoestabilización en cuanto a concentración de EPT estabilizada y su estabilidad en el tiempo.

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.
- Barbafieri M., Japenga J., Romkens P., Petruzzelli G., Pedron F. 2013. Protocols for applying phytotechnologies in metal-contaminated soils. *In: D. K. Gupta (ed). Plant-based Remediation Processes. Soil Biology* 35. Springer. New York. pp. 19-38.
- Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B., Sizmur T. 2011. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. *Environmental Pollution* 159: 3269-3282.
- Beesley L., Inneh O.S., Norton G. J., Moreno-Jimenez E., Pardo T., Clemente R., Dawson J.J.C. 2014. Assessing the influence of compost and biochar amendments on the mobility and toxicity of metals and arsenic in a naturally contaminated mine soil. *Environmental Pollution* 186: 195-202.
- Carrillo-González R., Maldonado-Torres A., González-Chávez M.C.A., Cruz Díaz J. 2014. Estabilización de elementos potencialmente tóxicos en residuos de mina por aplicación de roca fosfórica y vermicompost. *Ciencia en la frontera: Revista de ciencia y tecnología de la UACJ* 12: 15-26.
- Córdova S., Neaman A., González I., Ginocchio R., Fine P. 2011. The effect of lime and compost amendments on the potential for the revegetation of metal-polluted, acidic soils. *Geoderma* 166: 135-144.
- Cuellar-Sánchez A. 2016. Fitorremediación de suelos contaminados con plomo mediante el uso de *Ricinus communis* y hongos micorrízico arbusculares. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2007. The use of soil amendments for remediation, revitalization and reuse EPA 542-R-07-013. U. S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio.
- Galende M. A., Becerril J. M., Gómez-Sagasti M. T., Barrutia O., Epelde L., Garbisu C., Hernández A. 2014. Chemical stabilization of metal-contaminated mine soil: early short-term soil-amendment interactions and their effects on biological and chemical parameters. *Water Air and Soil Pollution* 225:1863.
- González-Chávez M.C., Carrillo-González R. 2013. Tolerance of *Chrysanthemum maximum* to heavy metals: the potential for its use in the revegetation of tailings heaps. *Journal of Environmental Sciences* 25:367-375.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Hernández-Godínez M.I., Evangelista-Lozano S. 2016. *Jatropha curcas* and assisted phytoremediation of a mine tailing with biochar and a mycorrhizal fungus. *International Journal of Phytoremediation* doi.org/10.1080/15226514.2016.1207602.
- Hernandez-Soriano M. C., Jimenez-Lopez J. C. 2012. Effect of soil water content and organic matter addition on the speciation and bioavailability of heavy metals. *Environmental Science* 423: 55-61.
- 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.
- Komárek M., Vaněk A., Ettler V. 2013. Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides: A review. *Environmental Pollution* 172, 9-22.
- 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.
- Lee S.H.; Lee J.S., Choi Y.J., Kim J.G. 2009. In situ stabilization of cadmium, lead and zinc-contaminated soil using various amendments. *Chemosphere* 77: 1069-1075.
- Miller J.R., Miller S.M.O. 2007. Contaminated rivers a geomorphological-geochemical approach to site assessment and remediation. Springer. Netherlands. pp. 327-350.
- Park J.H., Bolan N. 2013. Lead immobilization and bioavailability in microbial and root interface. *Journal of Hazardous Materials* 261: 777-783.
- Perea-Vélez Y.S., Carrillo-González R., Solís-Domínguez F.A., González-Chávez M.C.A. 2015. Fitorremediación de un residuo de mina asistida con enmiendas y bacterias promotoras de crecimiento. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal* 6: 31-49.
- Ruiz-Olivares A. 2016. Esquema de fitorremediación de un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.
- Ulmanu M., Mats T., Anger I., Gament E., Olanescus G., Predescue C., Sohaci M. 2007. The remedial treatment of soil polluted with heavy metals using fly ash. *UPB. Science Bulletin, Series B* 69: 109-116.
- Vangronsveld J.C.H.M., Cunningham S.D., Lepp N.W., Mench M. 1998. Physico-chemical aspects and efficiency of trace elements immobilization by soil amendments. *In: Vangronsveld J., Cunningham S. D. (Eds), Metal-contaminated soils: In situ Inactivation and Phytoremediation. R.G. Landes Co., Georgetown, TX, pp. 151-182.*
- Vangronsveld J., Herzog R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M. 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Sciences and Pollution Research* 16 765-794.
- Zhang M., Zhang H. 2010. Co-transport of dissolved organic matter and heavy metals in soils induced by excessive phosphorus applications. *Journal of Environmental Science* 22: 598-606.

VERMICOMPOST Y ESTIÉRCOL OVINO PARA ESTABILIZAR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN UN RESIDUO DE MINA

VERMICOMPOST AND SHEEP MANURE USED TO STABILIZE POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS IN MINE RESIDUES

Carrillo-González R.^{1*}; Perea-Vélez Y.S.¹; González-Chávez M.C.A.¹

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

*Autor de correspondencia: crogelio@colpos.mx

RESUMEN

Se realizó una selección de enmiendas para reducir la disponibilidad de Cu, Pb, Cd y Zn de un residuo de mina de Zimapan, Hidalgo. Vermicompost (V) y estiércol ovino (E) se utilizaron como enmiendas orgánicas (1=5%, 2=10% y 3=15% masa/masa) y perlita expandida como enmienda inorgánica (PE1=2%, PE2=5%, PE3=10% y PE4=20%). Se evaluó la estabilización (disponibilidad) de elementos potencialmente tóxicos (EPT) después de la incubación por 75 días del residuo de mina con las enmiendas. Se realizó análisis de infrarrojo (IR) para determinar grupos funcionales posiblemente involucrados en la estabilización de los EPT. Las enmiendas V2, V3 y E1 estabilizaron la mayor proporción de Pb (16%, 16% y 18%, respectivamente). Asimismo, E1, E2 y E3 redujeron de 14% a 18% la disponibilidad de Cu. No se observó disminución de disponibilidad de Zn con ninguna de las enmiendas. Todas las enmiendas solubilizaron Cd. El análisis de IR mostró que grupos fosfato de las enmiendas se modifican al estar en contacto con el residuo de mina. De igual manera, se observaron grupos aromáticos enlazados a los OH y NH. Estos podrían interactuar con EPT y estabilizarlos. Con base en los resultados obtenidos se recomienda el uso de V y E; sin embargo, se sugiere mayor tiempo de incubación para aumentar la estabilización de los EPT.

Palabras clave: enmiendas orgánicas e inorgánicas, contaminación del suelo.

ABSTRACT

A selection of amendments was carried out to reduce the availability of Cu, Pb, Cd and Zn from a mine residue of Zimapan, Hidalgo. Vermicompost (V) and sheep manure (E) were used as organic amendments (1=5%, 2=10% and 3=15% mass/mass) and expanded perlite as inorganic amendment (PE1=2%, PE2=5%, PE3=10% and PE4=20%). The stabilization (availability) of potentially toxic elements (PTE) was evaluated after incubation for 75 days of the mine residue with the amendments. Infrared analysis (IR) was performed to determine functional groups that were possibly involved in the stabilization of the PTE. The amendments V2, V3 and E1 stabilized the highest proportion of Pb (16%, 16% and 18%, respectively). Likewise, E1, E2 and E3 reduced Cu availability in a range from 14% to 18%. A decrease of availability in Zn was not observed with any of the amendments. In contrast, Cd was solubilized with all amendments. The IR analysis showed modification in phosphate and NH groups as well as aromatic groups linked to OH and NH from the amendments when mixed with the mine residue. These groups could interact with PTE and stabilize them. Based on the results obtained, the use of V and E is recommended. However, a longer incubation time is suggested to increase PTE stabilization.

Keywords: organic and inorganic amendments, soil contamination.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 21-27.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.

INTRODUCCIÓN

LOS residuos de mina poseen características que representan un obstáculo para el desarrollo de cubiertas vegetales y comunidades microbianas (Méndez y Maier, 2008). Estas son: bajo contenido de nutrientes esenciales (N, P y K) y materia orgánica, así como pH extremo (desde 2 hasta 9). Por ello, se han ideado estrategias para mejorar los procesos de fitoestabilización, como la adición de enmiendas, la cual es un medio eficaz para reducir la biodisponibilidad de los EPT, tanto en suelos contaminados como en residuos de mina (Kumpiene *et al.*, 2009). Incorporar la proporción adecuada de enmienda en suelos contaminados con EPT promueve la sorción, precipitación y secuestro de los EPT por complejación (EPA, 2007), lo que puede reducir la disponibilidad de estos elementos. Además, las enmiendas pueden mejorar las características físicas y químicas del suelo contaminado (Kumpiene *et al.*, 2012; González-Chávez *et al.*, 2016). Se ha reportado la efectividad de diversas enmiendas útiles para disminuir la disponibilidad de EPT. Muchos de estos estudios se han realizado en soluciones acuosas o situaciones idealizadas. Otros estudios han tenido resultados positivos en experimentos de campo. Sin embargo, dada la variabilidad en las propiedades de los residuos de mina y de los materiales que se adicionan, es necesario hacer estudios a nivel laboratorio e invernadero para probar la efectividad de las enmiendas sobre la estabilización de EPT. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar una enmienda para reducir la disponibilidad de los elementos potencialmente tóxicos en un residuo de mina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización química del residuo de mina y enmiendas

El residuo de mina bajo estudio proviene de la denominada presa Santa María del distrito minero de Zimapán, Hidalgo. Como enmienda inorgánica se utilizó perlita expandida (PE) y para el caso de las orgánicas se empleó vermicompost (V) de desechos de jardín, cocinas y estiércol caballar, y estiércol (E) ovino fresco. Tanto enmiendas como el residuo de mina se secaron a temperatura ambiente durante tres días. Estos se homogenizaron y se tamizaron a 2 mm. En los materiales se determinó pH y conductividad eléctrica (CE; Rowell, 1994), materia orgánica (Dean 1974), concentración de N, S, P, Ca y Mg totales y sulfatos solubles (solo para el residuo de mina). La concentración extractable de EPT se determinó con DTPA-TEA-CaCl₂, con una relación soluto (residuo de mina o enmienda)/extractante de 4 g/20 mL

(Lindsay y Norvell, 1978). La concentración total de EPT se determinó mediante el método EPA 3050. La concentración de EPT se determinó por absorción atómica en un espectrómetro Perkin-Elmer 3110. Asimismo, se analizó la textura en el residuo de mina (Day, 1965). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Estabilización de EPT en mezclas de enmiendas y residuo de mina

Se realizaron mezclas de residuo de mina con las diferentes enmiendas bajo estudio. V y E se utilizaron como orgánicas. Estas se mezclaron con el residuo de mina en proporciones 5% (V1 o E1), 10% (V2 o E2) y 15% (V3 o E3), mientras que PE, que fue inorgánica, se mezcló con residuo de mina en relaciones masa/masa: 2% (PE1), 5% (PE2), 10% (PE3) y 20% (PE4). Las mezclas se depositaron en frascos de plástico y se les agregó 10 mL de agua destilada (correspondientes a 80% de la humedad de capacidad de campo del residuo de mina). Las muestras se incubaron por 30 días en oscuridad a temperatura ambiente y cada semana se homogenizaron. Posteriormente, siguieron tres períodos de secado y humedecimiento en invernadero (20 a 35 °C). Esto es, una vez que las muestras se secaron se procedió a humedecerlas a 80% de capacidad de campo. Después del último período de humedecimiento y secado (75 días), las muestras se homogenizaron y se determinó la concentración extractable de EPT.

Análisis por espectrofotometría infrarroja de grupos funcionales

A través de espectrofotometría infrarroja (IR) se obtuvo información de los grupos funcionales que pueden participar en la estabilización de EPT. Para ello, muestras de residuo de mina y de las mezclas estabilizadas con E y V se analizaron con base en su mayor capacidad para inmovilizar EPT. Las muestras se secaron y molieron hasta obtener partículas finas y se les realizó un barrido de 4,000 a 600 cm⁻¹ en un espectrofotómetro de IR de transformadas de Fourier. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con el paquete estadístico SAS versión 9.0. Asimismo, se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey con un $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química del residuo de mina y enmiendas

El residuo de mina presentó textura franco arenosa (82% arena y 18% limo) y pH neutro (Cuadro 1), mientras que la

Cuadro 1. Propiedades químicas de residuo de mina y enmiendas.

Variable	Residuo de mina	Vermicompost	Estiércol ovino	Perlita expandida
pH	6.91±0.04	8.47±0.01	8.96±0.01	5.60±0.07
CE (dS m ⁻¹)	2.10±0.02	5.21±0.05	13.64±0.07	1.71±0.01
Materia orgánica (%)	0.58±0.13	57.67±0.29	22.17±0.27	NA
N total (%)	NA	0.96±0.04	2.20±0.08	NA
Ca total (%)	15.53±1.49	2.04±0.05	1.53±0.01	0.13±0.01
Mg total (%)	0.80±0.05	0.61±0.01	0.80±0.02	0.03±0.00
K total (%)	0.23±0.02	1.79±0.03	5.32±0.25	0.27±0.02
P total (%)	0.06±0.00	0.46±0.02	0.43±0.01	0.02±0.01
S total (%)	1.56±0.59	NA	NA	NA
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	516.53±24.88	NA	NA	NA

CE: Conductividad Eléctrica; N: No analizado.

PE tuvo pH moderadamente ácido, en contraste con V y E que mostraron pH fuertemente alcalino (NOM-021-SEMARNAT-2000). Con base en la CE, el residuo de mina y la PE no son afectados por sales. No obstante, la vermicompost se puede clasificar como moderadamente salina y el E como altamente salina. La CE de residuos de mina puede variar entre las fuentes de obtención debido a la adición de sales que se usan en el proceso de separación de metales (Farrokhpay, 2011). El porcentaje de materia orgánica del residuo fue extremadamente pobre. Varios estudios reportan que el bajo contenido de materia orgánica y macronutrientes son característicos de los residuos de mina (Mendez y Maier, 2008), debido a que es roca molida con sales y otros compuestos que se adicionan durante la concentración del mineral. El V tuvo el mayor porcentaje de materia orgánica seguido del E. El contenido de N total en V fue 0.96% y en E fue 2.20%. La aplicación de estos materiales puede servir como suplemento de N además de P, K, Ca y Mg. Por el

contrario, el residuo de mina presentó bajo contenido de P, K y Mg. La concentración de Cd, Pb y As en el residuo de mina superó las concentraciones totales de referencia para suelos con uso agrícola y residencial (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004; Cuadro 2). Es decir, hay riesgo potencial para los asentamientos humanos cercanos a los montículos de residuos. También, hay riesgo para los ecosistemas y cuerpos de aguas naturales cercanos a los depósitos de los residuos de mina. En las enmiendas orgánicas, el elemento que se encontró en mayor concentración fue Fe seguido de Mn. En la PE, los elementos que se encontraron en mayor concentración fueron Fe y Pb. La extracción con DTPA-TEA-CaCl₂ representa una estimación de la concentración de EPT que se encuentran en la solución del suelo en forma de iones libres, complejos solubles, o bien, en formas fácilmente lábiles (Davidson, 2013). La concentración extractable de EPT en el residuo de mina tuvo la siguiente tendencia Zn>Pb>Fe>Cu>Mn>Cd>Ni (Cuadro 3). A pesar de que el Zn se encontró en mayor concentración que los otros elementos, la fracción móvil de éste (concentración de EPT extraída con DTPA como porcentaje del contenido total de EPT) fue 0.15%, mientras que la fracción móvil de Cd y Pb fue 3.64% y

Cuadro 2. Concentración total de elementos potencialmente tóxicos (mg kg⁻¹) en residuo de mina y enmiendas.

EPT	Residuo de mina	Vermicompost	Estiércol ovino	Perlita expandida	CT-A/R/C	CT-I
Fe	91,129±7396	935±11	965±123	2,575±221		
Mn	1,107±49	197±69	138±4	12±0		
Cu	1,480±90	36±1	8±1	1±1		
Zn	57,569±3161	72±4	94±3	12±1		
Ni	49±3	20±1	22±1	21±2	1,600	20,000
Cd	53±5	2±1	5±1	5±1	37	450
Pb	1748±215	33±9	28±2	65±17	400	800
As	30,075±6846	Tz	Tz	Tz		

EPT: elemento potencialmente tóxico; Tz=trazas.

CT-A/R/C: Referencia Mexicana para concentración total en suelos de uso agrícola/residencial/comercial (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004).

CT-I: Referencia Mexicana para concentración total en suelos de uso industrial (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004).

Cuadro 3. Concentración extractable con DTPA de elementos potencialmente tóxicos (mg kg⁻¹) en residuo de mina y enmiendas.

EPT	Residuo de mina	Vermicompost	Estiércol ovino	Perlita expandida
Fe	17.18±3.19	120.10±4.67	40.01±4.03	20.31±3.44
Mn	2.44±0.11	55.91±1.37	45.39±0.32	1.59±0.32
Cu	9.36±0.09	9.15±0.48	5.76±0.68	3.48±0.19
Zn	88.92±5.17	58.70±1.88	5.66±0.20	6.07±0.49
Ni	0.78±0.15	0.29±0.38	11.20±12.85	9.26±2.74
Cd	1.93±0.10	0.99±0.76	2.18±0.75	1.49±0.82
Pb	82.98±2.94	3.38±2.13	0.09±1.35	21.41±2.71

EPT: Elemento potencialmente tóxico.

4.74%, respectivamente, por lo que hay alta disponibilidad de estos elementos para las plantas. Por el contrario, la concentración extractable de EPT en todas las enmiendas es baja.

Concentración extractable de EPT en residuos de mina estabilizados con enmiendas

Plomo. Después de los tres períodos de humedecimiento y secado,

la mayor estabilización de Pb se observó en residuo de mina mezclado con E1, V2 y V3; en 17%, 16% y 18% Pb, respectivamente (Figura 1a). En contraste, la Pe incrementó la concentración extractable de Pb. Por otro lado, el tiempo de estabilización es relevante para permitir que ocurran las reacciones lentas entre la enmienda y el residuo de mina para la estabilización de los EPT (Martínez y Motto, 2000).

Cadmio. Ninguna de las enmiendas disminuyó la disponibilidad de Cd (Figura 1b). Los resultados obtenidos por la adición de E son contrastantes con los reportados por Galende *et al.* (2014), quienes encontraron que esta enmienda puede reducir la disponibilidad de Cd (extractable con CaCl₂) en un residuo de mina ácido. La nula respuesta a la adición de enmiendas orgánicas se puede atribuir a que el Cd se une débilmente a la materia orgánica (McBride, 1994). Los complejos de Cd con los ácidos húmicos son poco estables y reversibles. Estos se realizan a través de intercambio catiónico (Borůvka y Drábek, 2004) de la siguiente forma: RCOOH+M⁺⇌RCOOM+H⁺ (McBride, 1994). Cuando los ácidos húmicos de la materia orgánica interactúan con los EPT; las reacciones de intercambio dominan inicialmente y posteriormente prevalecen las re-

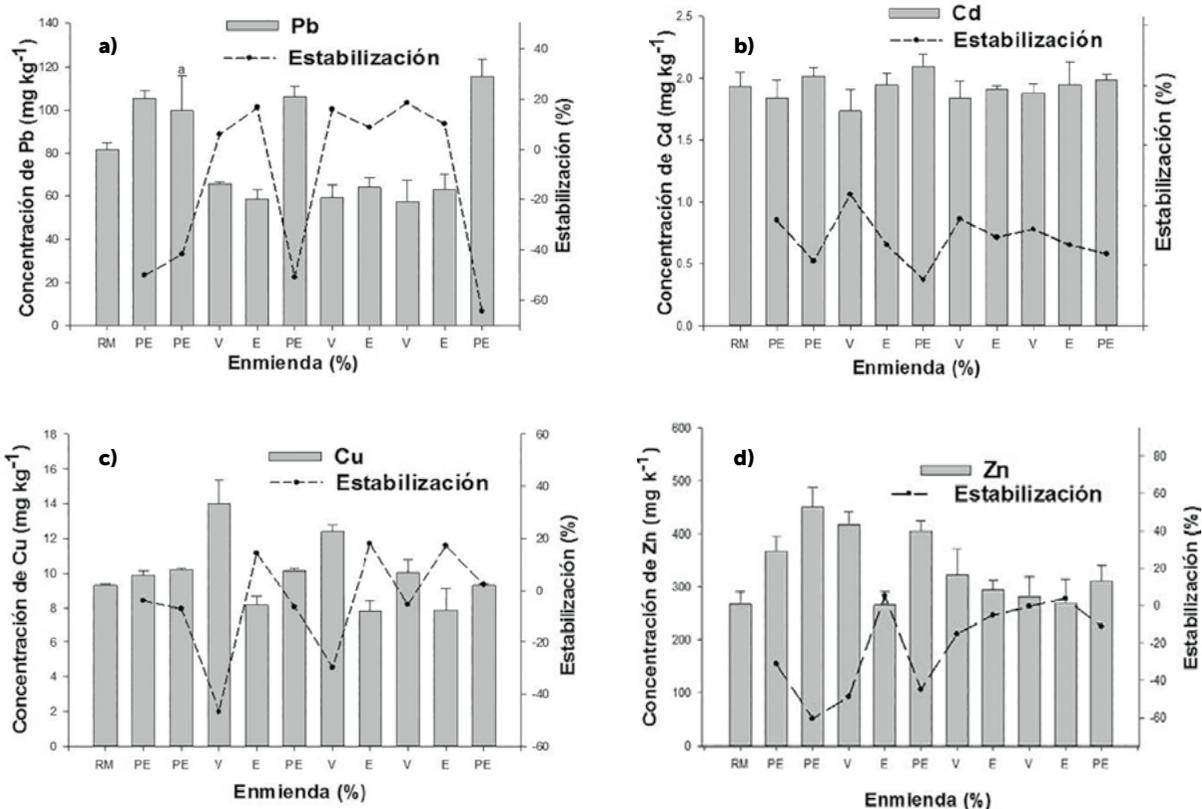


Figura 1. Efecto de enmiendas en la concentración y estabilización de EPT del residuo de mina (RM). PE=perlita expandida, V=vermicompost, E=estiércol fresco de borrego.

acciones de quelatación. Sin embargo, se ha reportado que después de periodos prolongados algunos cationes no reaccionan con los ligandos orgánicos debido a impedimentos estéricos o bloqueo de los sitios de reacción por otros (Rashid, 1985).

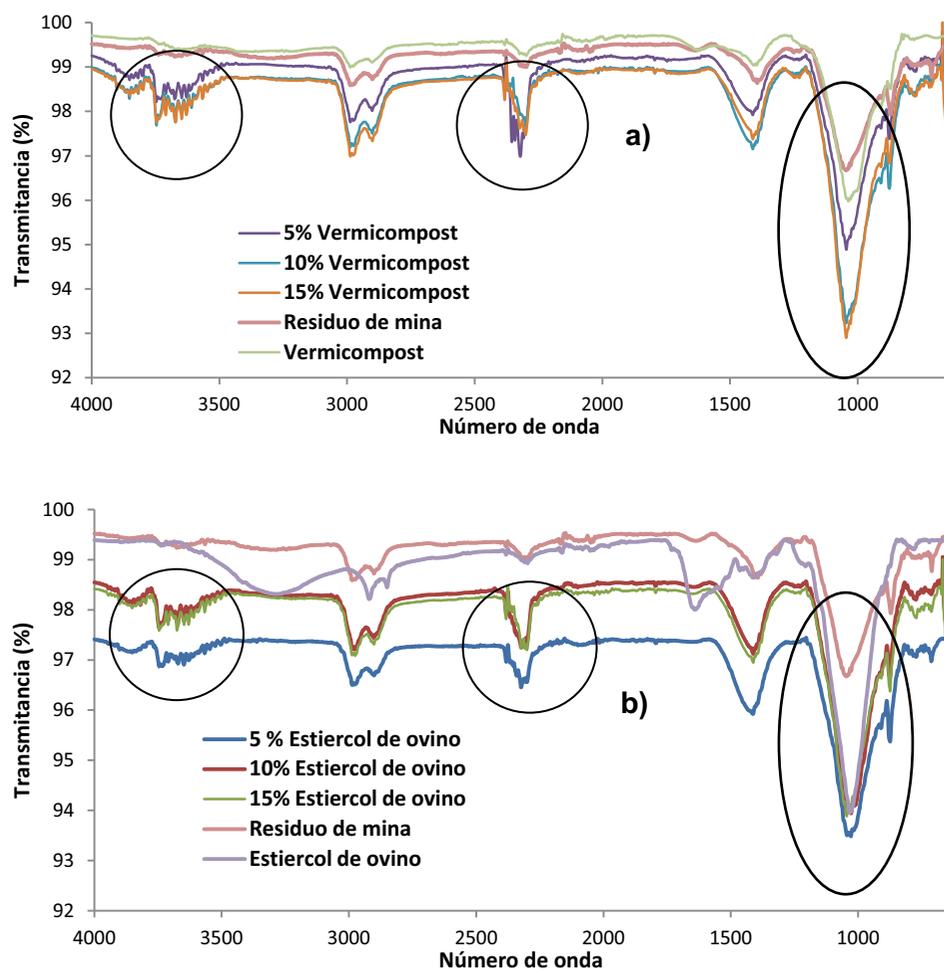
Cobre. La mayor inmovilización de Cu se observó con E (Figura 1c). Walker *et al.* (2004) encontraron que la adición de estiércol de vaca fue efectiva para reducir la fracción soluble e intercambiable de Cu, Zn y Mn en comparación con residuo de mina solo y el residuo con vermicompost. Se ha observado alta afinidad del Cu para formar complejos coordinados con las sustancias húmicas insolubles de la materia orgánica (Borůvka y Drábek, 2004). La adición de PE no modificó significativamente la concentración de Cu extractable con respecto al residuo de mina; sin embargo, la adición de V1 y V2 aumentó significativamente la concentración de este elemento, lo que implica disolución de minerales de Cu.

Zinc. Ninguna de las enmiendas orgánicas tuvo efecto significativo en la estabilización del Zn (Figura 3d).

(Borůvka y Drábek, 2004) reportaron que los grupos $-\text{COOH}$ y $-\text{OH}$ forman complejos de Zn menos estables que los que se forman con Pb y Cu. Esto se debe a que Cd y Zn unen a través de intercambio catiónico. Otros autores creen que el Zn forma complejos fuera de la esfera o complejos inestables dentro de la esfera (Minkina *et al.*, 2006). Además, las cargas positivas en su superficie ocasionan repulsión electrostática de los iones metálicos (Sari *et al.*, 2007).

Análisis por espectrofotometría infrarroja de grupos funcionales

Las enmiendas E y V tienen grupos funcionales tales como carboxílicos, hidroxílicos, fenólicos y aminos (Figura 2). Estos grupos tienen gran afinidad con los EPT (Rashid, 1985) y son responsables de las reacciones de quelación, intercambio catiónico y formación de sales entre la materia orgánica y los EPT (Rashid, 1985). La presencia de compuestos orgánicos puede ayudar a formar complejos de Pb de alto peso molecular poco solubles (Farrell y Jones, 2010); por ejemplo, se ha reportado la formación de complejos coordinados entre el Pb y sustancias húmicas insolubles (Borůvka y Drábek, 2004). En adición, la materia orgánica humificada contiene moléculas más reactivas que la materia orgánica poco descompuesta (Rashid, 1985). El análisis en IR (Figura 2a), de la mezcla residuo de mina con E, muestra la desaparición de la banda en $1,646\text{ cm}^{-1}$ (asignada a los compuestos anillados C-C) de la enmienda original. También se puede observar la ausencia de bandas en la región de $1,830$ a $1,650\text{ cm}^{-1}$. Esto quiere decir que no se encuentran grupos carbonilo presentes en la mezcla residuo



de la mezcla residuo de mina con E, muestra la desaparición de la banda en $1,646\text{ cm}^{-1}$ (asignada a los compuestos anillados C-C) de la enmienda original. También se puede observar la ausencia de bandas en la región de $1,830$ a $1,650\text{ cm}^{-1}$. Esto quiere decir que no se encuentran grupos carbonilo presentes en la mezcla residuo

Figura 2. Espectro infrarrojo de residuo de mina y las mezclas preparadas con enmiendas estabilizadas por tres ciclos de secado y humedecimiento (105 días). a) Estiércol ovino, b) vermicompost. En círculos se muestran los principales radicales involucrados en la interacción con los EPT.

de mina con E. Se ha encontrado que la reacción entre ácido aspártico y Cu hace desaparecer picos en 2,080 y 1,640, 1,690 y 1,420 cm^{-1} en el complejo metal-orgánico (correspondientes a grupos carboxil y NH). Dupuy y Douay (2001) observaron que al incrementar la concentración de Pb, el espectro en IR de la materia orgánica del suelo sufrió perturbaciones. Es decir, se incrementó la intensidad de las bandas en 1,670 y 1,690 cm^{-1} correspondientes a los grupos carboxílico y carboxilato, mientras que la banda en 1,710 cm^{-1} desapareció. Nuestros resultados muestran que en ambos espectros también se puede observar la formación de nuevas bandas en la región de 772 a 650 cm^{-1} , correspondiente a los compuestos aromáticos. Además, se aprecia la aparición de pequeñas bandas en el intervalo de 3,748 y 3,515 cm^{-1} , las cuales se generan por vibraciones de tensión de los enlaces O-H y N-H (Stuart, 2004; Stenberg *et al.*, 2010). Esto indica que se están formando algunos compuestos hidratados, o bien, los grupos OH pueden estar unidos a los compuestos aromáticos o aminas (Tan, 1998; Rajiv *et al.*, 2013).

Los espectros tanto de E como de V muestran aumento de las bandas características de las tensiones del enlace C-H de compuestos alifáticos (2,990; 2,986; 2,926; y 2,905 cm^{-1} ; Stuart, 2004; Stenberg *et al.*, 2010). Igualmente, los picos en 2,302, 2,383 y 2,352 cm^{-1} son producto de las vibraciones del enlace P-H. La aparición de estos picos surge del aporte de fosfatos por parte de las enmiendas. Además, las bandas en 1,415, 1,408, 880 y 875 cm^{-1} correspondientes al anión CO_3^{2-} también aumentan.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman que el uso de enmiendas orgánicas puede reducir la disponibilidad de EPT. Con base en dichos resultados es posible recomendar el V para la estabilización de Pb. Asimismo, se observa que es necesario más tiempo de incubación para que E estabilice una mayor concentración de Pb.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto CONACyT-PDCPN-2013-215241.

LITERATURA CITADA

- Boruvka L, Drabek O. 2004. Heavy metal distribution between fractions of humic substances in heavily polluted soils. *Plant, Soil and Environment* 50: 339-345.
- Davidson C.M. 2013. Methods for the determination of heavy metals and metalloids in soils. *In*: B.J. Alloway (ed.). *Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability*, *Environmental Pollution* 22 (3rd ed.). Springer. Netherlands. pp. 98-140.
- Day P. 1965. Particle fractionation and particle size analysis. *In*: Part 1 Black, C. A. (ed.) *Method of soil analysis*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. pp. 565-566.
- Dean W.E. 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology* 44:242-248.
- Dupuy N., Douay F. 2001. Infrared and chemometrics study of the interaction between heavy metals and organic matter in soils. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 57: 1037-1047.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2007. The use of soil amendments for remediation, revitalization and reuse EPA 542-R-07-013. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- Farrell M., Jones D. L. 2010. Use of compost in the remediation of heavy metal contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 175: 575-582.
- Farooqhpay S. 2011. The significance of froth stability in mineral flotation: A review. *Advances in Colloid and Interface Science* 166: 1-7.
- Galende M.A., Becerril J.M., Gómez-Sagasti M.T., Barrutia O., Epelde L., Garbisu C., Hernández A. 2014. Chemical stabilization of metal-contaminated mine soil: early short-term soil-amendment interactions and their effects on biological and chemical parameters. *Water Air and Soil Pollution* 225:1863.
- Kumpiene J., Guerri G., Landi L., Pietramellara G., Nannipieri P., Renella G. 2009. Microbial biomass, respiration and enzyme activities after in situ aided phytostabilization of a Pb and Cu contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 115-119.
- Kumpiene J., Fitts J.P., Mench M. 2012. Arsenic fractionation in mine spoils 10 years after aided phytostabilization. *Environmental Pollution* 166: 82-88.
- Lindsay W.L., Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA test from soil zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 421-428.
- Martínez C. E., Motto H.L. 2000. Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. *Environmental Pollution* 107: 153-158.
- McBride B.M. 1994. *Environmental chemistry of soils*. Oxford University Press, New York. 397 p.
- Mendez M.O., Maier R.M. 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives* 116: 278-283.
- Minkina T.M., Motuzova G. V., Nazarenko O.G. 2006. Interaction of heavy metals with the organic matter of an ordinary chernozem. *Eurasian Soil Science* 39: 720-726.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico,

bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.

- Rajiv P., Rajeshwari S., Venckatesh R. 2013. Fourier transform-infrared spectroscopy and gas chromatography–mass spectroscopy: reliable techniques for analysis of Parthenium mediated. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 116: 642-645.
- Rashid M.A. 1985. *Geochemistry of marine humic compounds*. Springer Verlag, New York. 293 p.
- Rowell D.L. 1994. *Soil science. Methods and applications*. Logman Group. London UK. 350p.
- Sari A., Tuzen M., Citak D., Soylak M. 2007. Adsorption characteristics of Cu(II) and Pb(II) onto expanded perlite from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials* 148: 387-394.
- Stenberg B., Viscarra Rossel R.A., Mouazen A.M., Wetterlind J. 2010. Visible and near infrared spectroscopy in soil science. pp. 163-215. *In: D. L. Sparks (ed.): Advances in Agronomy, Vol. 107*, Burlington: Academic Press.
- Stuart B. 2004. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Wiley. 242 p.
- Tan K.M. 1998. *Principles of soil chemistry (3rd ed)*. Marcel Dekker, New York. 495 p.
- Walker D.J., Clemente R., Bernal M.P. 2004. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere* 57: 215-224.



FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS CON ENFÁSIS EN HONGOS ARBUSCULARES

MICROORGANISMS AIDED REMEDIATION WITH EMPHASIS ON ARBUSCULAR FUNGI

González-Chávez M.C.A.¹, Carrillo-González R.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 suelos por elementos potencialmente tóxicos (EPT) es un problema actual a nivel mundial. El objetivo de la remediación es reducir el riesgo de exposición de estos contaminantes a los organismos vivos. Ante ello, el uso de plantas asociadas con microorganismos benéficos es una alternativa verde promisoría. En este trabajo se enfatiza la participación de los hongos micorrízico arbusculares (HMA) en la fitorremediación con diversas ventajas para las plantas: el fomento del crecimiento y productividad, la inmovilización de EPT en las raíces micorrizadas y las estructuras fúngicas, así como la modificación del estado químico de dichos contaminantes para reducir su toxicidad. El presente trabajo resume varias investigaciones que muestran amplias perspectivas de su uso para la fitorremediación en el campo.

Palabras clave: Micorrizas, remediación, contaminación de suelos.

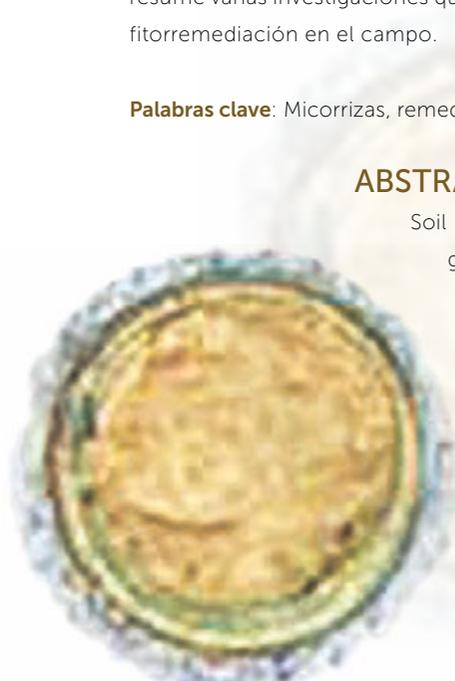
ABSTRACT

Soil contamination by potentially toxic elements (PTEs) is a current problem at the global level. The objective of remediation is to reduce the risk of exposure of living organisms to these contaminants. Before this, the use of plants associated with beneficial microorganisms is a promising green alternative. In this review the participation of AMF is emphasized, this association present relevant advantages for phytoremediation: improving growth and productivity, immobilizing the PTEs in mycorrhizal roots and fungal structures, as well as changing the chemical status of these contaminants to reduce their toxicity. This document sums up many studies that show broad perspectives of the use of AMF for phytoremediation in the field.

Keywords: mycorrhizae, remediation, soil contamination.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 28-33.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.



INTRODUCCIÓN

Fitorremediación asistida por microorganismos

Dadas las condiciones físicas, químicas y biológicas desfavorables que se presentan en los sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT), el uso de microorganismos benéficos es muy importante en la fitorremediación. La rizósfera es la zona de influencia de la raíz y es muy dinámica. En ésta se presentan diversas relaciones mutualistas entre microorganismos y plantas. En este sitio hay una elevada exudación de sustancias útiles para el metabolismo microbiano y representa un hábitat ecológico (González-Chávez, 2005). Los microorganismos participan en diversos procesos que benefician a la planta y resultan en ventajas para lograr su establecimiento y desarrollo en sitios contaminados con EPT. Por ejemplo: fijación biológica de nitrógeno atmosférico, solubilización de fósforo, producción de antibióticos o sustancias para control de patógenos, sustancias promotoras del crecimiento, sideróforos, sustancias con actividad surfactante, etcétera (Khan, 2005; Ortega-Larrocea *et al.*, 2010; Velázquez-Aradillas *et al.*, 2011; Sessitsch *et al.*, 2013). Además, los microorganismos pueden interactuar directamente sobre los contaminantes (Khan, 2006; Juwarkar *et al.*, 2010), por lo que resulta de suma importancia considerar dentro de la fitorremediación a los microorganismos mutualistas que se asocian a las raíces de las plantas (Carrillo-González y González-Chávez, 2012). Son varios los microorganismos que se asocian a las plantas en condiciones de contaminación por EPT (Navarro-Noya *et al.*, 2010), pero los más estudiados, debido a su abundancia y beneficios, son las bacterias promotoras del crecimiento de plantas (BPCP) (Abhilash *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2011), hongos micorrízico arbusculares (HMA) (Figura 1) (Miransari, 2011; Mathur *et al.*, 2007; González-Chávez *et al.*, 2002 a,b) y hongos endófitos (Cherian *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012). Además de las BPCP y de los HMA existen otros microorganismos que también participan en los procesos químicos que involucran a los EPT en el suelo. Algunos de éstos son los actinomicetos, las algas y las cianobacterias (El-Baz, 2015; El-Enany e Issa, 2000; Mehta y Gaur, 2005). A pesar de que estos grupos se asocian comúnmente con las raíces de las plantas existen muy pocos estudios de su actividad y función en suelos contaminados, por lo que se deberían considerar

en futuros estudios (González-Chávez *et al.*, 2005). Bajo la tendencia de la fitoestabilización, que se basa en la estabilización o inmovilización de los EPT en la rizósfera o en las raíces de las plantas, hay que retomar la ventaja que brindan los microorganismos al aumentar la tolerancia a EPT y no solo centrarse en que aumenten la absorción de EPT en los tejidos de las plantas con las que se asocian. No obstante, se han realizado pocos trabajos referentes al uso de bacterias en la estabilización de EPT, lo que abre un campo de investigación muy prometedor (Gonzalez-Chávez y Carrillo González, 2013 a, b). Especial énfasis se debería hacer en la aplicación de BPCP, las cuales en condiciones sin contaminación son un complemento natural al adecuado desarrollo de las plantas. Estos organismos pueden producir hormonas, proteger a las plantas, principalmente contra enfermedades de la raíz, e incrementar la tolerancia a diferentes tipos de estrés como salinidad, sequía o falta de nutrientes, por lo que es de esperarse que su función también sea importante en sitios contaminados, dado el fomento del crecimiento de las plantas a utilizarse para remediación de suelos contaminados con EPT (Argumedo-Delira *et*

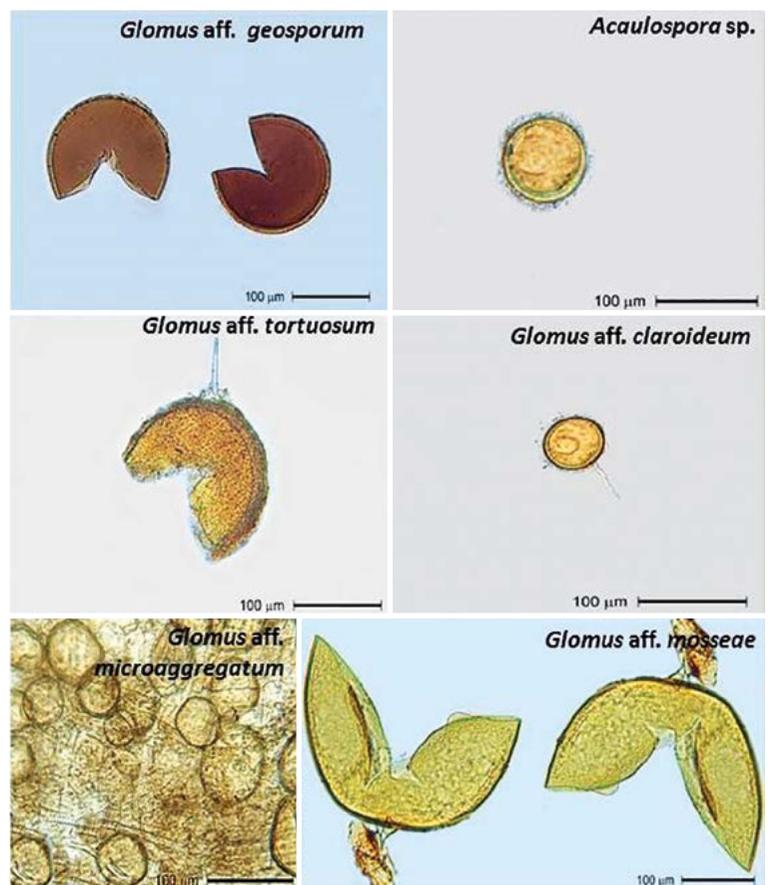


Figura 1. Hongos micorrízico arbusculares aislados de la rizósfera de plantas que crecen en sitios contaminados con residuos de minas, los cuales contienen altas concentraciones de EPT.



al., 2005; Carrillo-González y González-Chávez, 2012; González-Chávez *et al.*, 2009; González-Chávez, 2005; González-Chávez *et al.*, 2005). Existen numerosos trabajos donde se analiza su participación en el aumento de la acumulación de EPT en la planta. Sin embargo, en una revisión reciente se menciona que la respuesta de las bacterias en la fitoextracción es inconsistente y que aún se necesitan entender claramente los procesos fisiológicos involucrados en ello (Sessitsch *et al.*, 2013); se observa una situación parecida con los microorganismos endófitos. Hasta ahora solo se ha reportado su participación en el aumento de la concentración de EPT en parte aérea y raíz, por lo que también este grupo de microorganismos requiere mayor investigación para su uso en la fitorremediación de sitios contaminados. No obstante, existe una limitante en el empleo de microorganismos benéficos. Ésta es que en condiciones de campo en forma natural existe una población microbiana nativa, que compite y puede ser antagónica con los microorganismos que se inoculan, por lo que es necesario seleccionar microorganismos altamente competitivos y realizar pruebas previas para confirmar la utilidad de la introducción de microorganismos al suelo, así como utilizar microorganismos nativos los cuales están adaptados a las condiciones edáficas (González-Chávez, 2005).

Fitorremediación y hongos micorrízico arbusculares

Los HMA del grupo Glomeromicetes, simbiontes obligados de la mayoría de las plantas terrestres, desempeñan funciones importantes en el suelo. Algunos autores los consideran parte integral de las raíces por su función para la mayor adquisición de nutrientes como P, N y algunos micronutrientes. De igual manera, participan en la modificación del ambiente rizosférico (área de influencia de las raíces en el suelo), mejoran la estructura del suelo, favorecen la presencia selecta de grupos microbianos benéficos para la planta, disminuyen las condiciones de estrés (salinidad, sequía, acidez, etcétera) e incrementan la tolerancia a enfermedades de la raíz. En condiciones de altas concentraciones de EPT en el suelo se ha observado que los HMA colonizan en forma natural las raíces de plantas que crecen en estos sitios contaminados (Ortega-Larrocea *et al.*, 2010; Figura 1). Los hongos modulan la absorción de los EPT en un amplio intervalo de concentraciones. González-Chávez *et al.* (2009) mostraron evidencias de que éstos pueden estar involucrados en la atenuación natural de éstos ambientes. En esta condición, el manejo de buenas prácticas agronómicas incrementará los propágulos fúngicos y sus beneficios; por ejemplo, adición de materia

orgánica, mínima labranza, uso de plantas micorrízicas (que son colonizadas con HMA), rotación de cultivos, bajo insumo de plaguicidas y fertilizantes. Además de los beneficios antes mencionados, bajo condiciones de contaminación se ha demostrado que los HMA incrementan la tolerancia de la plantas a los contaminantes. Los principales mecanismos que actúan en HMA son la restricción en la absorción de EPT; si éstos se absorben entonces ocurre un secuestro intracelular y compartimentalización. También los hongos cuentan con bombas de expulsión de contaminantes.

En el caso de la restricción de ingreso de EPT, el micelio externo (o extrarradical) y la glomalina son capaces de inmovilizar EPT. Éstos actúan a nivel de pared celular fúngica. El micelio se encuentra fuera de la raíz y explora ampliamente el suelo, mientras que la glomalina es una glicoproteína a nivel de superficie que las hifas de los HMA producen abundantemente durante su crecimiento activo (González-Chávez *et al.*, 2004). Por tanto, ambas estructuras fúngicas reducen la disponibilidad y así disminuyen la toxicidad de estos contaminantes en el sistema suelo-planta (Joner *et al.*, 2000; González-Chávez *et al.*, 2002a, b). El secuestro intracelular ocurre a nivel de citoplasma por formación de complejos de los iones metálicos por medio de aminoácidos, fitoquelationas o metalotioneínas (González-Guerrero *et al.*, 2007 y Shine *et al.*, 2015). También se observa compartimentalización, principalmente en las vacuolas (González-Guerrero *et al.*, 2008); así, se disminuye la forma iónica de los EPT y su toxicidad.

Cuellar *et al.* (2011) observaron significativamente menor producción de micelio externo al incrementar la concentración de Cd (1 mg L^{-1} adicionado en la solución nutritiva), Pb (20 mg L^{-1}) y Zn (40 mg L^{-1}). Sin embargo, a estas altas concentraciones de los elementos la capacidad del micelio para secuestrar estos EPT aún fue significativa ($20 \mu\text{g}$ de Cd por g micelio seco, $60 \mu\text{g}$ de Pb g^{-1} y $25 \mu\text{g}$ de Zn g^{-1}). González-Chávez *et al.* (2004) mostraron que la glomalina secuestra Pb, Cd, Cu, Zn, Mn, entre otros EPT presentes en suelos contaminados. Ésta disminuye el riesgo de EPT en su forma iónica y, por tanto, su toxicidad. Aunado al carácter recalcitrante de la glomalina y su abundante producción, el secuestro de EPT puede considerarse un proceso irreversible a largo plazo. El alto contenido de C en la glomalina también ofrece ventajas de secuestro de C en el suelo de sitios contaminados con EPT. Esto representa un servicio ambiental que relaciona su participación a nivel global

con la mitigación de los efectos del cambio climático. Los HMA también cuentan con mecanismos moleculares específicos de expulsión de ciertos EPT, como el arsénico (As). Una vez que el As (V) ingresa a la célula fúngica, el hongo lo reduce (AsIII) y la bomba inicia su expulsión en un tiempo tan corto como 3 h hasta su eliminación de la célula (González-Chávez *et al.*, 2013b; González-Chávez *et al.*, 2014). De esta manera, el As no se acumula en las células fúngicas ni hacen daño en su funcionamiento bioquímico (Figura 2).

Cuando las poblaciones nativas de HMA no son abundantes o son ineficientes es necesaria la inoculación con HMA nativos y seleccionados. Khan (2006) propuso el término micorrizorremediación para aludir el empleo de los HMA en conjunto con plantas para remediar suelos contaminados con EPT.

González-Chávez *et al.* (2002b) observaron que pastos inoculados (*Holcus lanatus*) con HMA nativos producen mayor número de hijuelos por planta, incrementan su biomasa y absorben menos As, pero más P. Este último es un proceso paradójico debido a que As y P son químicamente análogos y se absorben con el mismo sistema de transporte (transportador de fosfatos de alta afinidad); sin embargo, el hongo absorbe selectivamente más P que As. En suelos contaminados con EPT, al estar micorrizadas, las plantas adquieren mayor tolerancia y capacidad para sobrevivir la condición de estrés abiótico (González-Chávez *et al.*, 2009, 2011, 2013b; González-Chávez, 2009). Genes fúngicos involucrados en el transporte de Cu, Zn, Fe y Mn se han reportado recientemente (González-Guerrero *et al.*, 2005, Tisserant *et al.*, 2013, Tamayo *et al.*, 2014). Sin embargo, se ha observado que los HMA influyen menor translocación de estos contaminantes. González-Chávez y Carrillo-González (2013) demostraron que plantas de crisantemo (*Chrysanthemum maximum*) creciendo en residuos de mina e inoculadas con *Funneliformis mosseae* BEG25 tuvieron menor concentración de Cu y Pb en su parte aérea, en comparación con plantas no inoculadas (testigo). González-Chávez *et al.* (2016) también observaron que *Acaulospora* sp. disminuyó el factor de bioacumulación de Cd en la parte aérea de plantas de *Jatropha*

establecidas en un residuo de mina en comparación con el uso de biochar. Estos autores también observaron que la inoculación incrementó 31% la concentración de clorofila a en estas plantas. La disminución de los pigmentos fotosintéticos son resultado de toxicidad de EPT en las plantas; así, los HMA pueden funcionar como organismos que disminuyen los efectos tóxicos de estos contaminantes. Recientemente, Cuellar-Sánchez *et al.* (2016) analizaron el uso de vermicompost y la inoculación de *Ricinus communis* con HMA como una alternativa verde para la fitorremediación de un sitio contaminado con residuos de baterías ácidas de automóviles. En sitios contaminados con estos residuos, el Pb en concentraciones muy altas (42,000 mg kg⁻¹ suelo)

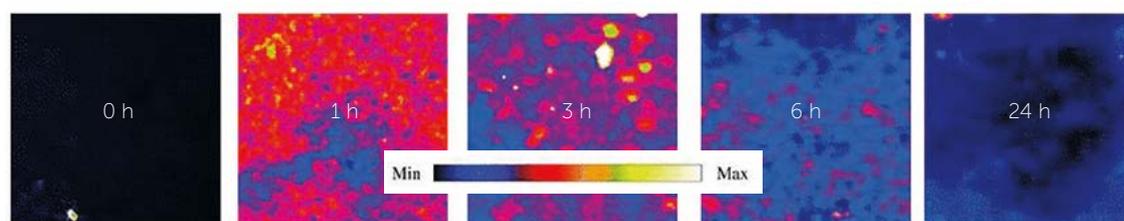


Figura 2. Cinética de expulsión de arsénico del micelio externo del hongo micorrizico *Rhizofagus intraradices* (*Rhizofagus irregularis*) observada a través del análisis de espectroscopia de radiación de sincrotrón.

es el principal contaminante. Estos autores observaron que en las plantas testigo (sin inocular) el vermicompost disminuyó tres veces la concentración extractable de Pb en el suelo; adicionalmente, los HMA favorecieron las condiciones del suelo contaminado y disminuyeron la absorción de Pb en la parte aérea de las plantas de *R. communis*. *Funneliformis mosseae* BEG-25 fue el hongo que más disminuyó la conductividad eléctrica del suelo rizosférico (0.3 dS m⁻¹ vs. 2.2 dS m⁻¹ en la rizosfera de plantas testigo), mientras que tres HMA: *F. mosseae* BEG-25, *Acaulospora* sp. y *Glomus* sp., disminuyeron la concentración de Pb en la parte aérea de plantas (67, 100 y 107 mg Pb kg⁻¹ peso seco, respectivamente), en comparación con plantas no inoculadas y las inoculadas con *Gigaspora gigantea* (234 y 119 mg Pb kg⁻¹ peso seco, respectivamente). La clorofila se incrementó en las plantas inoculadas (hasta 68 mg g⁻¹ de hojas) en comparación con las no inoculadas (43 mg g⁻¹ de hojas). También los HMA incrementaron el peso seco de semillas, el contenido y la calidad del aceite de *R. communis*. Algunos investigadores han incursionado en el estudio de la interacción de los HMA con otros contaminantes menos comunes en el suelo. Guo *et al.* (2013) reportaron la participación de los HMA en el establecimiento de plantas en suelos contaminados con elementos raros en China (La, Ce, Pr y Nd). La colonización micorrizica

disminuyó la concentración de dichos elementos en el tejido aéreo de las plantas. Sin embargo, son necesarios más estudios que fortalezcan la información existente y demuestren la importancia de estos hongos y su interacción con éstos y otros elementos raros.

CONCLUSIONES

La fitorremediación asistida con HMA es una opción económicamente redituable para remediar suelos contaminados con EPT. Las diferentes investigaciones demuestran que los HMA no solo interactúan con la planta, sino también con los contaminantes y el suelo. Todo ello modifica las condiciones para que las plantas se puedan establecer, crecer e incrementar su tolerancia y productividad en dichos sitios. La mayor estabilización de los EPT con la consecuente disminución de su disponibilidad es uno de los principales efectos de los HMA, lo cual resulta en una alternativa altamente promisoría para su uso extensivo.

LITERATURA CITADA

- Abhilash P.C., Powell J.R., Singh H.B., Singh B.K. 2012. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. *Trends in Biotechnology* 30: 416-420.
- Argumedo-Delira R. 2005. Caracterización de rizobacterias aisladas de suelos contaminados con metales pesados. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A. 2012. Aplicación de fitotecnologías en suelos. XXXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zacatecas. 11-16 noviembre 2012.
- Cherian S., Weyens N., Lindberg S., Vangronsveld J. 2012. Phytoremediation of trace element-contaminated environments and the potential of endophytic bacteria for improving this process. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42: 2215-2260.
- Cuellar-Sánchez A., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R. 2011. Production of extraradical mycelium and its metal immobilization capacity in the association *Glomus mosseae* BEG25-sorghum. *Revista Latinoamericana El Ambiente y las Ciencias* 1: 1-11.
- Cuellar-Sánchez A., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Delgado-Alvarado A., Suárez-Espinosa J., Solís Domínguez F., Maldonado Mendoza I. 2016. Hongos micorrízico arbusculares y *Ricinus communis* en la fitorremediación de un suelo contaminado con residuos de batería de automóvil. VIII Simposio Nacional y V Reunión Iberoamericana de la Simbiosis Micorrízica. 20-24 junio. Oaxtepec, Morelos.
- El-Baz S, Baz M., Barakate L., Hassani L., El-Gharmali A., Imziln B. 2015. Resistance to and Accumulation of Heavy Metals by Actinobacteria Isolated from Abandoned Mining Areas. *Hindawi Publishing Corporation Article ID 761834*.
- El-Enany A.A., Issa A.A. 2000. Cyanobacteria as a biosorbent of heavy metals in sewage water. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 8: 95-101.
- González-Chávez, M.C.A. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *TERRA Latinoamericana* 23: 29-37.
- González Chávez, M.C.A. 2009. Bio-recuperación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos: uso de hongos arbusculares. *In: Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. FJ Álvarez (ed.). Las prensas de ciencias. pp. 305-322.
- González-Chávez C., D'Haen J., Vangronsveld J., Dodd, J.C. 2002a. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil* 240, 287-297.
- González Chávez M.C., Dodd J.C., Harris P., Meharg A. 2002b. Arsenate resistance in arbuscular mycorrhizal associations: implications for phosphorus nutrition of plants. *New Phytologist* 155: 163-171.
- González-Chávez, M.C.A., Carrillo-González R., Wright S.F., Nichols K.A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130: 317-323.
- González-Chávez, M.C.A., Carrillo González R., González-Ramírez P., Díaz Garduño M.L. 2005. Remediation of Polluted soils using rhizospheric microorganisms and plants. I. Identification and characterization. 8th International Conference on the Biogeochemistry of trace elements. April 3-7th. Adelaide, Australia.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Gutiérrez-Castorena M.C. 2009. Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: The role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Hazardous Materials* 161: 1288-1298.
- González-Chávez, M.C., Ortega-Larrocea, M.P., Carrillo-González, R., López-Meyer, M., Xoconostle-Cazares, B., Gómez S.K., Harrison, M.J., Figueroa-López, A.M., Maldonado-Mendoza, I. E. 2011. Arsenate induces the expression of fungal genes involved in As transport in arbuscular mycorrhiza. *Fungal Biology* 115: 1197-1209.
- González-Chávez, M.C., Carrillo-González, R. 2013a. Tolerance of *Chrysanthemum maximum* to heavy metals: the potential for its use in the revegetation of tailings heaps. *Journal of Environmental Sciences* 25: 367-375.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo González R. 2013b. Enlazando fitorremediación de sitios contaminados y secuestro de carbono como servicio ambiental. IV Simposio Internacional del Carbono en México. 20 - 24 de mayo del 2013. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- González-Chávez M.C.A., Miller B., Maldonado-Mendoza I.E., Scheckel K., Carrillo-González R. 2014. Speciation of Arsenic in *Glomus intraradices* by Synchrotron Radiation Spectroscopic Analysis. *Fungal Biology* 118: 444-452.
- González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Hernández-Godínez I., Evangelista Lozano S. 2016. *Jatropha curcas* and assisted phytoremediation of a mine tailing with biochar and a mycorrhizal fungus. *International Journal of Phytoremediation* doi.org/10.1080/15226514.2016.1207602.
- González-Guerrero M, Azcón-Aguilar C, Mooney M, Valderas A, MacDiarmid CW, Eide DJ, Ferrol N. 2005. Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. *Fungal Genetics and Biology* 42: 130-140.

- González-Guerrero M, Cano C, Azcón-Aguilar C, Ferrol N. 2007. GintMT1 encodes a functional metallothionein in *Glomus intraradices* that responds to oxidative stress. *Mycorrhiza* 17: 327-35.
- González-Guerrero M, Melville LH, Ferrol N, Lott JNA, Azcón-Aguilar C, Peterson RL. 2008. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology* 54: 103-110.
- Guo W., Zhao R., Zhao W., Fu R., Guo J., Bi N., Zhang J. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grown in rare earth elements of mine tailings. *Applied Soil Ecology* 72: 85-92.
- Joner E.J., Briones R., Leyval C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil* 226: 227-234.
- Juwarkar A.A., Singh S.K., Mudhoo A. 2010. A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 9: 215-288.
- Khan A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 355-364.
- Khan A.G. 2006. Mycorrhizoremediation: an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science B* 7: 503-514.
- Li H.Y., Wei D.Q., Shen M., Zhou Z.P. 2012. Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Diversity* 54: 11-18.
- Ma Y., Prasad M.N.V., Rajkumar M., Freitas H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances* 29: 248-258.
- Miransari M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances* 29: 645-653.
- Mathur N., Bohra J.S.S., Quaizi A., Vyas A. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi: a potential tool for phytoremediation. *Journal of Plant Sciences* 2: 127-140.
- Mehta S.K., Gaur J.P. 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology* 25: 113-152.
- Navarro-Noya Y. E., Jan-Roblero J., González-Chávez M.C.A., Hernández-Gama R., Hernández-Rodríguez C. 2010. Bacterial communities associated with the rhizosphere of pioneer plants (*Bahia xylopoda* and *Viguiera linearis*) growing on heavy metals-contaminated soils. *Antonie van Leeuwenhoek* 97: 335-349.
- Ortega-Larrocea M.D.P., Xoconostle-Cazares B., Maldonado-Mendoza I.E., Carrillo-Gonzalez R., Hernández-Hernández J., Garduño M.D., López-Meyer M., Gómez-Flores L., González-Chávez M.C.A. 2010. Plant and fungal biodiversity from metal mine wastes under remediation at Zimapan, Hidalgo, Mexico. *Environmental Pollution* 158: 1922-1931.
- Sessitsch A., Kuffner M., Kidd P., Vangronsveld J., Wenzel W., Fallmann K., Puschenreiter M. 2013. The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 60: 182-194.
- Shine AM, Shakya VP, Idnurm A. 2015. Phytochelatin synthase is required for tolerating metal toxicity in a basidiomycete yeast and is a conserved factor involved in metal homeostasis in fungi. *Fungal Biology and Biotechnology* 2: 1-21.
- Tamayo E, Gómez-Gallego T, Azcón-Aguilar C, Ferrol N. 2014. Genome-wide analysis of copper, iron and zinc transporters in the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-13.
- Tisserant E, Malbreil M, Kuo A. 2013. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 20117-20122.
- Velázquez-Aradillas J.C., Toribio-Jiménez J., González-Chávez M.C.A., Bautista F., Cebrián M.E., Esparza-García F.J., Rodríguez-Vázquez R. 2011. Characterisation of a biosurfactant produced by a *Bacillus cereus* strain tolerant to cadmium and isolated from green coffee grain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 907-913.



FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS: ENFÁSIS EN BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS

MICROORGANISMS AIDED PHYTOREMEDIATION: FOCUS ON PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA

Perea-Vélez Y.S.¹; Carrillo-González R.¹, González-Chávez M.C.A.^{1*}

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

*Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

La fitorremediación ha surgido como una alternativa para el tratamiento *in situ* de suelos contaminados; sin embargo, las interacciones planta-microorganismo-elementos potencialmente tóxicos (EPT) en la rizósfera son un factor crítico. La participación microbiana es importante en la fitorremediación porque favorece el ciclo de nutrientes, aumenta la producción de la biomasa vegetal y disminuye la toxicidad de los EPT para las plantas; todo ello mejora la eficiencia de la fitorremediación. Detectar cepas bacterianas que promueven el establecimiento, crecimiento y productividad de plantas tolerantes a EPT tiene implicaciones importantes en el desarrollo de procesos de fitorremediación más eficientes.

Palabras clave: elementos potencialmente tóxicos, asociación planta-microorganismo, ácido indolacético, sideróforos, ACC desaminasa.

ABSTRACT

Phytoremediation has emerged as an alternative for *in situ* treatment of contaminated soils; however, the interactions of plant-microorganism-potentially toxic elements (PTE) in the rhizosphere are a critical factor. Microbial participation is important in phytoremediation because it favors the nutrient cycle, increases the plant biomass production, decreases the toxicity of PTE for the plants, and therefore improves the efficiency of phytoremediation. The identification of bacterial strains that promote the establishment, growth and productivity of PTE-tolerant plants has important implications in the development of more efficient phytoremediation processes.

Keywords: potentially toxic elements, plant-microorganism association, indole-acetic acid, siderophores, ACC deaminase.

Mecanismos directos

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 34-40.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.

INTRODUCCIÓN

El proceso de fitorremediación de sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT) depende de variables específicas del sitio a restaurar, tales como características del suelo, niveles de contaminación, tipo de vegetación y clima (Barbafieri *et al.*, 2013). Muchas de éstas hacen que el establecimiento de cubiertas vegetales no sea fácil de alcanzar (Puga *et al.*, 2006). Como estrategia para aumentar el establecimiento de plantas se propone utilizar la diversidad microbiana en conjunto con las especies vegetales (Rajkumar *et al.*, 2012). Esta estrategia se llama fitorremediación asistida por microorganismos (Rayu *et al.*, 2012). La asociación de plantas con microorganismos puede mejorar la eficiencia de la fitorremediación debido a que los microorganismos son capaces de alterar la biodisponibilidad de los EPT (Glick, 2010; Kidd *et al.*, 2009). Además, se mejora tanto la tolerancia de las plantas a los EPT como la producción de su biomasa (Denton, 2007; Rajkumar *et al.*, 2012). Asimismo, metabolitos producidos por bacterias, tales como el ácido indolacético (AIA), los sideróforos y algunos ácidos orgánicos, además de enzimas que alteran los niveles de hormonas en las plantas, tienen funciones destacadas en la absorción de nutrientes, el control de organismos patógenos, la elongación celular y regulación de la actividad metabólica de la raíz; además, mejoran los procesos de desintoxicación de EPT en las plantas (González-Chávez, 2005; Rajkumar *et al.*, 2012). Por consiguiente, contar con cepas bacterianas capaces de sintetizar dichos metabolitos abre áreas de oportunidad prometedoras en el campo de la fitorremediación (de-Bashan *et al.*, 2010; Rajkumar *et al.*, 2012). Sin embargo, se requiere de mejor comprensión de la rizósfera, lo cual ayudará a trasladar los resultados obtenidos en experimentos a nivel invernadero, a la complejidad y heterogeneidad del campo y, al mismo tiempo, mejorar la eficiencia y el éxito de la fitorremediación (Compant *et al.*, 2010; Wenzel *et al.*, 2009). El presente trabajo se enfoca en la fitoestabilización asistida por bacterias promotoras del crecimiento de plantas (BPCP) y su objetivo es ofrecer una revisión actualizada sobre la función de las BPCP para mejorar las estrategias de fitoestabilización.

Las bacterias promotoras de crecimiento de plantas

Estas cepas se caracterizan por su capacidad para: 1) colonizar la superficie de la raíz, 2) propagarse y sobrevivir en presencia de los microorganismos nativos del suelo (Bakker *et al.*, 2007; Gamalero *et al.*, 2009), y 3) estimular el crecimiento de la planta (Ahemad y Kibret, 2013). De manera general, las BPCP promueven el crecimiento de las plantas de forma directa (también denominada activa) e indirecta (Nadeem *et al.*, 2014; Sarabia-Ochoa *et al.*, 2010). La promoción activa del crecimiento de la planta ocurre como consecuencia del suministro de nutrientes, tales como nitrógeno, fósforo y hierro (N, P, Fe) que no se encuentran disponibles en el suelo (Gamalero y Glick, 2011; Meldau *et al.*, 2012). Por medio de la fijación biológica de N atmosférico se suministra de N a la planta, mientras que la solubilización de minerales a través de la síntesis de ácidos orgánicos de bajo peso molecular permite la disponibilidad de P (Joseph *et al.*, 2007). Asimismo, la producción de sustancias quelantes, como los sideróforos, los cuales son compuestos de bajo peso molecular con alta constante para complejar

hierro (Miethke y Marabel, 2007), incrementan la disponibilidad de dicho elemento para plantas (Gamalero y Glick, 2011).

Los mecanismos directos incluyen también la producción de reguladores del crecimiento, como auxinas, giberelinas y citoquininas (Ahemad y Kibret, 2013; Joseph *et al.*, 2007), o bien, la alteración de la concentración de etileno en la planta por medio de enzimas como la 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC; Joseph *et al.*, 2007). Por otra parte, los mecanismos indirectos de promoción de crecimiento ocurren cuando las BPCP previenen o reducen los efectos nocivos de los organismos patógenos (Nadeem *et al.*, 2014). Estos incluyen la competencia por espacio o sustrato con otros microorganismos. Por ejemplo, los sideróforos pueden privar de Fe a los organismos fitopatógenos (Compant *et al.*, 2005). Asimismo, mediante la síntesis de compuestos con efecto biocida, como el ácido cianhídrico, amoníaco y antibióticos (Compant *et al.*, 2005; Glick, 2003; Saharan y Nehra, 2011; Weyens *et al.*, 2009). Al asociarse con bacterias, algunas plantas producen enzimas hidrolíticas que causan la lisis de la pared celular, lo que puede funcionar para controlar patógenos fúngicos (Weyens *et al.*, 2009). En adición, algunas BPCP provocan cambios físicos o químicos relacionados con la defensa de las plantas, lo que se le denomina resistencia sistémica inducida (RSI). Ésta suprime enfermedades generadas por una amplia gama de patógenos de plantas (Yang *et al.*, 2009). Algunos autores sugieren que las BPCP se pueden clasificar en función del mecanismo que emplean para promover el crecimiento vegetal. Es

decir, como inoculantes microbianos (mal denominados biofertilizantes) que favorecen la nutrición, fitoestimuladores (síntesis de fitohormonas) o bioplaguicidas (agentes de control biológico; Ahemad y Kibret, 2013;). Sin embargo, en la mayoría de los casos las BPCP presentan más de un modo de promoción de crecimiento (Glick, 2003).

Función de las BPCP en suelos contaminados

Además de los mecanismos directos e indirectos, las BPCP inducen cambios en la biodisponibilidad de EPT, y ocurren a través de reacciones de óxido reducción, modificación del pH del medio y adsorción en la superficie bacteriana (de-Bashan et al., 2012; Glick, 2003; Ma et al., 2011; Rajkumar et al., 2010) (Figura 1). La solubilización de P es un medio para disminuir la concentración de EPT en la solución del suelo. Wu et al. (2006) observaron disminución de la concentración soluble (en agua) de Pb y Zn por el aumento de P disponible en la solución del suelo. Estos elementos pueden reaccionar con P y formar precipitados. La inoculación de *Enterobacter* sp., en suelos enmendados con P aumentó 51% la inmovilización de Pb (extractable con NH₄NO₃), comparado con el tratamiento sin inocular enmendado sólo con P (Park et al., 2010).

Una estrategia que algunas bacterias han desarrollado para reducir el efecto tóxico de EPT es la producción de sideróforos. Estos compuestos pueden formar complejos estables con EPT como Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb y Zn (Rajkumar et al., 2010), aumentando su solubilidad, pero reduciendo su toxicidad. Los mecanismos en los cuales los sideróforos bacterianos coadyuvan a que las plantas puedan crecer en los sitios contaminados se observan en el Cuadro 1. Se puede notar una participación conjunta en al menos dos procesos atribuidos a la función de las bacterias. Los sideróforos también han mostrado que incrementan el crecimiento de plantas de calabaza (*Cucurbita* sp), mostaza (*Brassica* spp.) y soya

verde (*Glycine max*). La inoculación de estas plantas con *Pseudomonas* redujo significativamente la absorción por la planta de Cd y Pb (Sinha y Mukherjee, 2008; Tripathi et al., 2005). Diversas investigaciones han documentado que la biosíntesis de sideróforos se estimula con la presencia de EPT (Rajkumar et al., 2009). Por ejemplo, la máxima producción de los mismos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se observó con 1.75 mM de Cd en el medio de cultivo (Sinha y Mukherjee, 2008). Algunos estudios muestran que 26% del total de los aislados bacterianos de sitios contaminados producen sideróforos (Dell'Amico et al., 2005). Otro mecanismo de reducción de la toxicidad de EPT es la transformación de las formas químicas del contaminante. Por ejemplo, *Rhizobium* sp., y *Pseudomonas putida* redujeron cadmio (Cd) a formas menos tóxicas (Belimov et al., 2005; Abou-Shanab et al., 2006), mientras que *Stenotrophomonas maltophilia* redujo selenio Se(IV) a Se(0), equivalente a una concentración de 82% menor que la original en el medio de cultivo (Di Gregorio et al., 2005). Asimismo, la acumulación de EPT en el tejido bacteriano reduce la concentración de éstos en el medio; por ejemplo, *Rhodococcus* sp. y *Flavobacterium* sp. bioacumularon Cd, Zn, Cu y Co (Belimov et al., 2005; Abou-Shanab et al., 2006).

Obtención de microorganismos para asistir la fitorremediación

Actualmente existen dos enfoques para aplicar BPCP

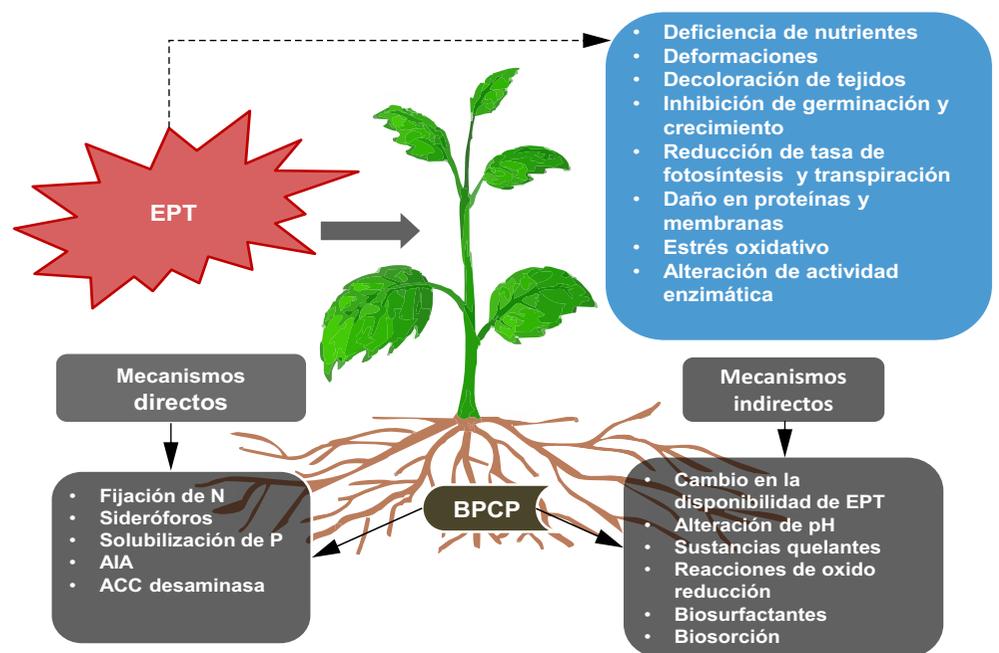


Figura 1. Mecanismos de acción de bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP) en suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos.

a la fitorremediación. El primero se basa en aislar cepas nativas de los sitios contaminados y posteriormente utilizarlas como inoculantes. El segundo propone usar cepas de BPCP no nativas que ya tienen uso agrícola (de-Bashan *et al.*, 2012). Se prefiere usar microorganismos nativos del sitio a remediar porque además de presentar atributos como BPCP son organismos adaptados a las condiciones del sitio en comparación con los microorganismos no expuestos a estas condiciones. Los trabajos de Langella *et al.* (2013) y Grandlic *et al.* (2008, 2009) son ejemplos del éxito de este enfoque.

No obstante, el criterio más importante para la selección de microorganismos es la adaptación de éstos

a las condiciones de los suelos contaminados y la resistencia a EPT (Haferbug y Kothe, 2012). Haferbug *et al.* (2009) encontraron que actinobacterias procedentes de suelos no metalíferos, resistieron una amplia gama de EPT, tales como cepas provenientes de zonas mineras. Wu *et al.* (2006) mostraron que *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* y *B. mucilaginosus* aislados de suelos agrícolas estimularon el crecimiento y protegieron a *Brassica juncea* del efecto tóxico de EPT de residuos de mina. Por otro lado, la selección de bacterias con propiedades de BPCP comprende ensayos que evalúan la solubilización de P, fijación de N atmosférico, liberación de sideróforos, producción de AIA y ACC (Haferbug y Kothe, 2012).

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la fitoestabilización de residuos de mina

Al estimular el crecimiento de las raíces con BPCP se obtiene mayor área superficial para la adsorción de EPT. Al mismo tiempo, el aumento de la biomasa radical crea estabilidad física contra la erosión eólica e hídrica (de-Bashan *et al.*, 2012). También pueden mejorar la tolerancia de las plantas. Sánchez-Pardo y Zornoza (2014) sugirieron que la simbiosis de *Bradyrhizobium* con *Lupinus albus* incrementa la tolerancia a cobre (Cu). Se ha demostrado que las BPCP estimulan la colonización de otros organismos benéficos, tales como los hongos micorrízico arbusculares (HMA). Vivas *et al.* (2006) observaron que la inoculación de *Trifolium repens* con

Cuadro 1. Tipo de sideróforo y función de las bacterias en las plantas.

Bacteria	Sideróforos	Planta	EPT	Función	Referencia
<i>Bacillus edaphicus</i>	NR	<i>Brassica juncea</i>	Pb	Estimula crecimiento vegetal, aumenta disponibilidad y acumulación de Pb	Sheng <i>et al.</i> , 2008
<i>Streptomyces tendae</i> F4	Desferrioxamina B, desferrioxamina E y coelichelin	<i>Helianthus annuus</i>	Cd	Promueve crecimiento vegetal, solubiliza EPTs, aumenta absorción de Fe y reduce absorción de Cd	Dimkpa <i>et al.</i> , 2009
<i>Streptomyces acidiscabies</i> E13	Desferrioxamina B, desferrioxamina E y coelichelin	<i>Vigna unguiculata</i>	Al, Cu, Fe, Mn, Ni, U	Protege a la planta de efecto tóxico, aumenta la absorción de Al, Cu, Fe, Mn, Ni y U	Dimpka <i>et al.</i> , 2009b
<i>Streptomyces acidiscabies</i> E13	Desferrioxamina B, desferrioxamina E y coelichelin	<i>Vigna unguiculata</i>	Ni	Promueve crecimiento vegetal por enlace de Fe y Ni	Dimpka <i>et al.</i> , 2008
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> y <i>Ralstonia metallidurans</i>	Pioverdina, pyochelina y alcaligina E	<i>Zea mays</i>	Cr, Pb	Promueve crecimiento vegetal, facilita movilización del EPTs, aumenta absorción de Cr y Pb	Braud <i>et al.</i> , 2009
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NR	<i>Brassica juncea</i> y <i>Cucurbita máxima</i>	Cd	Estimula crecimiento vegetal, reduce absorción del Cr	Sinha y Mukherjee 2008
<i>Pseudomonas putida</i> KNP9	Pioverdine	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Pb, Cd	Estimula crecimiento vegetal, reduce absorción de Pb y Cd	Tripathi <i>et al.</i> , 2005
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Avm y <i>Rhizobium leguminosarum</i> × <i>phaseoli</i> CPMex46	NR	<i>Medicago sativa</i>	Cu	Mejora translocación de Cu y Fe	Kayser <i>et al.</i> , 2000

NR= no reportado

Brevibacillus B-I aumentó 20% la colonización de *Funneliformis mosseae* en suelos contaminados artificialmente con zinc (Zn); además, *Brevibacillus* B-I estimuló el crecimiento de *Trifolium repens* por medio de la síntesis de AIA. Las BPCP también tienen efectos benéficos sobre las propiedades del suelo. Wu et al. (2006) reportaron aumento significativo en el contenido de N total, así como de materia orgánica en la remediación de residuos de mina, debido a un mayor desarrollo radical y a la producción de exudados inducidos por la inoculación de BPCP. Los estudios demuestran que, en conjunto con enmiendas, la fitoestabilización puede ser una técnica sostenible para rehabilitar suelos contaminados (Alkorta et al., 2004; de-Bashan et al., 2012; Dickinson et al., 2009). Algunos de estos estudios muestran que la cantidad óptima de compost para el establecimiento de algunas especies vegetales en suelos contaminados con EPT se puede reducir de 15% a 10% mediante el uso de BPCP (de-Bashan et al., 2010; Grandlic et al., 2008), e incluso, se puede sustituir el uso de fertilizantes para ayudar el establecimiento de plantas en residuos de mina (Petrisor et al., 2004). Expe-

rimentos en campo para la remediación de residuos de mina demuestran que la inoculación de un consorcio bacteriano y una enmienda pueden aumentar la tasa de supervivencia de plantas de 60% a 80% de *Euphorbia pithyusa*, comparada con las plantas cultivadas en residuo enmendado después de cinco meses (Sprocati et al., 2013). El Cuadro 2 lista algunos ejemplos de BPCP que se han propuesto para mejorar la fitoestabilización de EPT. Sin embargo, es importante vigilar que BPCP no cause la absorción de EPT en la planta. Langella et al. (2013) encontraron que la aplicación de un consorcio bacteriano aislado de un residuo de mina aumentó significativamente la extracción de Cd, Ni (níquel), Sr (estroncio) y Zn en *Festuca rubra* y *Agrostis capillaris*. Bajo este contexto, las BPCP podrían participar en la fitoextracción de EPT, otra alternativa de la fitorremediación.

Perea-Vélez et al. (2015) estudiaron, en *Ricinus communis*, el uso de estiércol ovino como enmienda y la inoculación con BPCP en un suelo de mina contaminado con EPT. La inoculación redujo la acumulación

Cuadro 2. Ejemplos de estudios de fitorremediación asistida con microorganismos para remediar suelos contaminados con EPT.

Cepa bacteriana	Origen de la BPCP†	Planta hospedera	Condición	Efecto de BPCP en plantas	Característica de BPCP	Referencia
<i>Azotobacter chroococcum</i> HKN-5, <i>Bacillus megaterium</i> HKP-1, <i>B. mucilaginosus</i> HKK-1	Suelos agrícolas de Hong Kong	<i>Brassica juncea</i>	Experimento en invernadero y suelo contaminado con Pb y Zn	Estimulación del crecimiento de la planta Protección contra el efecto tóxico del Pb y Zn	Solubilización de P, K, y fijación de N	Wu et al. (2006)
<i>Pseudomonas</i> sp. PsA, <i>Bacillus</i> sp. Ba32 (RS)	Suelos contaminados con EPT de Chennai, India		Cámara de crecimiento	Promoción de crecimiento	Síntesis de AIA y sideróforos. Solubilización de P	Rajkumar et al. (2006)
<i>Pseudomonas</i> sp. Ps29C, <i>Bacillus megaterium</i> Bm4C	Suelos derivado de serpentina de Brangança Portugal		Experimento en invernadero con suelo contaminado con Ni	Aumento de la longitud de las hojas	Síntesis de ACC deaminasa, AIA y solubilización de P	Rajkumar y Freitas (2008a)
<i>Rhodococcus erythropolis</i> MtCC 7905	Suelo contaminado con Cr de la región del Himalaya, India	<i>Pisum sativum</i>	Experimento en invernadero con suelo contaminado con Cr	Promoción del crecimiento, disminución de la concentración de Cr ⁶⁺	Reducción de Cr ⁶⁺	Trivedi et al. (2007)
<i>Pseudomonas</i> sp. PsM6 y <i>P. jessenii</i> PjM15	Suelos derivado de serpentina de Brangança Portugal	<i>Ricinus communis</i>	Experimento en invernadero con suelo contaminado con Cu, Ni y Zn	Adsorción de Zn en la raíz, promoción de biomasa radical	Solubilización de P, síntesis de AIA y ACC deaminasa	Rajkumar y Freitas (2008b)

†BPCP: bacteria promotora de crecimiento de plantas.

Abreviaturas: 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), ácido indol-3-acético (AIA), elemento potencialmente tóxico (ETP).

de Cd en la parte aérea de las plantas y la concentración de malondialdehído y peróxido de hidrógeno (especies reactivas que causan estrés oxidativo).

CONCLUSIONES

A pesar de los avances significativos en la investigación de la interacción entre microorganismos y plantas hace falta su aplicación en campo. Las investigaciones realizadas sugieren que la inoculación de BPCP y la aplicación de enmiendas son una herramienta prometedora para crear sistemas de fitorremediación más eficientes, por lo que la identificación, aislamiento e inoculación de BPCP puede ser de utilidad para mejorar la revegetación de sitios contaminados con EPT; sin embargo, es crucial encontrar la combinación adecuada de BPCP-planta-enmienda a aplicar. También es importante crear herramientas que permitan el monitoreo de los cambios en la población rizosférica, así como en la disponibilidad de EPT, para evaluar la eficiencia y duración del proceso de fitorremediación.

LITERATURA CITADA

- Abou-Shanab R., Angle J., Chaney R. 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2882-2889.
- Ahemad M., Kibret M. 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26:1-20.
- Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J., Amezága 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 Bio/Technology* 3: 71-90.
- Bakker P., Raaijmakers J., Bloemberg G., Hofte M., Lemanceau P., Cooke B. 2007. New perspectives and approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research. Springer. Dordrecht, Netherlands. 365 p.
- Barbafieri M., Japenga J., Romkens P., Petruzzelli G., Pedron F. 2013. Protocols for applying phytotechnologies in metal-contaminated soils. *In: Plant-based remediation processes, soil biology* 35. Gupta, D.K. (ed). Springer, New York. pp: 19-37.
- Braud A., Jézéquel K, Bazot S, Lebeau T. 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-, Hg- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere* 74: 280-286.
- Belimov A., Hontzas N., Safronova V., Demchinskaya S., Piluzza G., Bullitta S., Glick B., 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry* 37: 241-250.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., Barka E.A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 4951-4959.
- Compant, S., Clément C., Sessitsch A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 669-678.
- de-Bashan L.E., Hernández J.-P., Bashan Y., Maiera R. M. 2010. *Bacillus pumilus* ES4: Candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings. *Environmental and Experimental Botany* 69: 343-352.
- de-Bashan L.E.; Hernandez J.P., Bashan Y. 2012. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation: A comprehensive evaluation. *Applied Soil Ecology* 61: 171-189.
- Dell'Amico E., Cavalca L., Andreoni V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Gramineae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 52: 153-162.
- Denton B. 2007. Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. *MMG 445 Basic Biotechnology* 3: 1-5.
- Dickinson N., Baker A., Dorolina A., Laidlaw S., Reeves R. 2009. Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11: 97-114.
- Dimkpa C.O., Merten D., Svatos A., Büchel G., Kothe E. 2009. Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *Journal of Applied Microbiology* 107, 1687-1696.
- Gamalero E., Glick B.R. 2011. Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. *In: Bacteria in Agrobiological Plant Nutrient Management*. Maheshwari, D.K. (ed.). Berlin, Germany: Springer, pp. 17-46.
- Gamalero E., Lingua G., Berta G., Glick B.R. 2009. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Canadian Journal of Microbiology* 55: 501-514.
- Glick B.R. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances* 21: 383-393.
- Glick B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances* 28: 367-374.
- González-Chávez, M.C.A. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana* 23: 29-37.
- Grandlic C.J., Palmer M.W., Maier R.M. 2009. Optimization of plant growth-promoting bacteria-assisted phytostabilization of mine tailings. *Soil biology and Biochemistry* 41: 1734-1740.
- Grandlic C.J., Mendez M.O., Chorover J., Machado B., Maier R.M. 2008. Plant growth promoting bacteria for phytostabilization of mine tailings. *Environmental Science and Technology* 42: 2079-2084.
- Haferburg G., Groth I., Möllmann U., Kothe E., Sattler I. 2009. Arousing sleeping genes: shifts in secondary metabolism of metal tolerant actinobacteria under conditions of heavy metal stress. *Biometals* 22:225-234.
- Haferburg G., Kothe E. 2012. Biogeosciences in heavy metal-contaminated soils. *In: Kothe, E. and A. Varma (eds.), Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils, Soil Biology*. p 17-31.
- Joseph B., Ranjan-Patra R., Lawrence R. 2007. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Plant Production* 2: 141-152.

- Kidd P., Barcelo J., Bernal P., Navari-Izzo F., Poschenreder C., Shilev S., Clemente R., Monterroso C. 2009. Trace element behavior at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany* 67: 243-259.
- Langella F., Grawunder A., Stark R., Weist A., Merten D., Haferburg G., Büchel G., Kothe E. 2013. Microbially assisted phytoremediation approaches for two multi-element contaminated sites. *Environmental Science and Pollution Research* 21:6845-6858.
- Ma Y., Rajkumar M., Vicentea J.A., Freitas H. 2011. Inoculation of Ni-resistant plant growth promoting bacterium *Psychrobacter* sp. Strain SRS8 for the improvement of nickel phytoextraction by energy crops. *International Journal of Phytoremediation* 13: 126-139.
- Meldau D.G., Long H.H., Baldwin I.T. 2012. A native plant growth promoting bacterium, *Bacillus* sp.B55, rescues growth performance of an ethylene-insensitive plant genotype in nature. *Frontiers in Plant Science* 3: 1-13.
- Miethke M., Marabel M.A. 2007. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71: 413-451.
- Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir Z. A., Javaid A., Ashraf M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances* 32: 429-448.
- Petrisor I.G., Dobrota S., Komnitsas K., Lazar I., Michael J., Serban M. 2004. Artificial inoculation-Perspectives in tailings phytostabilization. *International Journal of Phytoremediation* 6:1-15.
- Puga S., Sosa M., Lebgue T., Quintana C., Campos A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada* 5: 149-155.
- Rajkumar M., Nagendran R., Lee K.J., Lee W.H., Kim S.K. 2006. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr⁶⁺ on the growth of Indian mustard. *Chemosphere* 62:741-8.
- Rajkumar M., Freitas H. 2008a. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology* 99:3491-8.
- Rajkumar M., Freitas H. 2008b. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* 71:834-42.
- Rajkumar M., Ae N., Freitas H. 2009. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere* 77: 153-160.
- Rajkumar M., Ae N., Prasad M.N. y Freitas H. 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Cell* 28: 143-149.
- Rajkumar M., Sandhya S., Prasad M., Freitas H. 2012. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances* 30: 1562-1574.
- Rayu S., Karpouzias D.G., Singh B.K. 2012. Emerging technologies in bioremediation: constraints and opportunities. *Biodegradation* 23: 917-926.
- Saharan B.S., Nehra V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research* 2011: 1-30.
- Sánchez-Pardo B., Zornoza P. 2014. Mitigation of Cu stress by legume-*Rhizobium* symbiosis in white lupin and soybean plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 102: 1-5.
- Sarabia-Ochoa M., Madrigal-Pedraza R., Martínez-Trujillo M., Carreón Abud Y. 2010. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas* 12: 65-71.
- Sheng X.F., Jiang C.Y., He L.Y. 2008. Characterization of plant growth-promoting *Bacillus edaphicus* NBT and its effect on lead uptake by Indian mustard in a lead-amended soil. *Canadian Journal of Microbiology* 54: 417-422.
- Sinha S., Mukherjee S.K. 2008. Cadmium-induced siderophore production by a high Cd-resistant bacterial strain relieved Cd toxicity in plants through root colonization. *Current Microbiology* 56: 55-60.
- Sprocati A.R., Alisi C., Pinto V., Montereali M.R., Marconi P., Tasso F., Turnau K., De Giudici G., Goralska K., Bevilacqua M., Marini F., Cremisini C. 2013. Assessment of the applicability of a "toolbox" designed for microbially assisted phytoremediation: the case study at Ingurtosu mining site (Italy). *Environmental Science and Pollution Research* 21:6939-6951.
- Tripathi M., Munot H.P., Shouche Y., Meyer J.M., Goel R. 2005. Isolation and functional characterization of siderophore-producing lead and cadmium-resistant *Pseudomonas putida* KNP9. *Current Microbiology* 50: 233-237.
- Trivedi P., Pandey A., Sa T. 2007. Chromate reducing and plant growth promoting activities of psychrotrophic *Rhodococcus erythropolis* MtCC 7905. *Journal of Basic Microbiology* 47: 513-517.
- Vivas A., Biró B., Ruíz-Lozano J.M., Barea J.M., Azcón R. 2006. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity. *Chemosphere* 62: 1523-1533.
- Wenzel W.W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil* 321:385-408.
- Weyens N., Van Der Lelie D., Taghavi S., Newman L., Vangronsveld J. 2009. Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology* 27: 591-598.
- Wu S.C., Cheung K.C., Luo Y.M., Wong M. H. 2006. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*. *Environmental Pollution* 140:124-35.
- Yang J., Kloepper J.W., Ryu C.M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* 14: 1-4.

CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO DE PLANTAS Y SU TOLERANCIA A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

CHARACTERIZATION OF PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA AND THEIR TOLERANCE TO POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS

Noguez-Iniesta J.A.¹; González-Chávez M.C.A.^{1*}; Carrillo-González R.¹; Martínez-Gómez, M.A.¹; Mendoza-Hernández J.C.²

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5. Carretera México-Texcoco, Texcoco Edo. de México 56230. ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 4 sur 104. Puebla, México.

*Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Trece cepas bacterianas se aislaron y caracterizaron bioquímicamente; se estudió su tolerancia a elementos potencialmente tóxicos (EPT). Siete se aislaron de nódulos de huizache (*Acacia farnesiana*), una de trébol (*Trifolium repens*) y cinco de suelo rizosférico procedente de sitios contaminados con residuos de mina de Zimapán, Hidalgo, México. Todas las cepas mostraron tolerancia a NaCl al 2%; sin embargo, solo ocho fueron altamente tolerantes a NaCl al 5%. Todas las cepas de bacterias fueron tolerantes a As, Pb, Cd, Zn, Cu y Cd. Con base en la producción de ácido indolacético (AIA), actividad de la enzima ACC-desaminasa, solubilización de fósforo y producción de sideróforos, cinco cepas (*Mesorhizobium loti* Af1, *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) Af6, *Enterobacter cancerogenus* K131, *Escherichia vulneris*. K123 y *Enterobacter* sp. K162), tienen potencial como bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP). *Alcaligenes faecalis* T2, tolerante a 168 mg Cd L⁻¹, formó una placa que recubrió la superficie colonial y representó 54% de Cd asociado a P, mientras que dentro de la colonia bacteriana se observó 41% de Cd acumulado, lo cual podría representar detoxificación, biosorción, precipitación o transformación enzimática de este elemento. Los resultados muestran que las bacterias poseen características relevantes pero, con excepción de *Mesorhizobium loti* Af1 y *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) Af6, debe descartarse si las otras cepas bacterianas son patógenas para humanos y plantas, y evitar su uso en fitorremediación.

Palabras clave: ácido indol acético, ACC-deaminasa, solubilización de fósforo, sideróforos.

ABSTRACT

Thirteen bacteria strains were isolated and characterized biochemically, their tolerance to potentially toxic elements (PTE) was studied. Seven were isolated from acacia nodules (*Acacia farnesiana*), one from clover (*Trifolium repens*) and five from rhizosphere soil from contaminated sites with mine residues from Zimapán, Hidalgo, México. All the strains showed tolerance to NaCl at 2%; however, only eight were highly tolerant to NaCl at 5%. All the bacteria strains were tolerant to As, Pb, Cd, Zn, Cu and Cd. Based on the production of indole-acetic acid (IAA), the activity of the ACCdeaminase enzyme, solubilization of phosphorus and production of siderophores. Five strains (*Mesorhizobium loti* Af1, *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) Af6, *Enterobacter cancerogenus* K131, *Escherichia vulneris*. K123 and *Enterobacter* sp. K162) have potential as plant growth-promoting bacteria (PGPB). The strain *Alcaligenes faecalis* T2, tolerant to 168 mg Cd L⁻¹, formed a plaque that coated the bacterial colony surface and represented 54% of the Cd associated to P. Meanwhile, 41% of accumulated Cd was observed within the bacterial colony, this could represent

detoxification, biosorption, enzymatic precipitation or transformation of this element. The results showed that bacteria have relevant characteristics for phytoremediation purpose. However, with the exception of *Mesorhizobium loti* Af1 and *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) Af6, it should be ruled out whether other bacterial strains are pathogenic for humans and plants, and in this case avoid their use in phytoremediation.

Keywords: indole-acetic acid, ACC-deaminase, phosphorus solubilization, siderophores.

INTRODUCCIÓN

El aislamiento, la caracterización morfológica y bioquímica de bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP) constituyen el primer paso para seleccionar microorganismos nativos que ayuden a las plantas que se utilizan en la fitorremediación de sitios contaminados (Valls y de Lorenzo, 2002). La selección se basa en aplicar microorganismos que posean propiedades bioquímicas que auxilien el establecimiento y crecimiento de plantas en estos sitios (Glick *et al.*, 2007), mediante el incremento en la disponibilidad de nutrientes esenciales en el suelo a través de diversos mecanismos como fijación biológica de N₂, solubilización de fosfatos y producción de sideróforos (Vessey, 2003). Se seleccionan microorganismos que producen sustancias que mejoran las condiciones de crecimiento y el desarrollo de la planta (Valls y de Lorenzo, 2002), como por ejemplo, la producción de ácido indolacético AIA (Ahemad *et al.*, 2014) y la enzima ACC-desaminasa. El primero es un promotor del crecimiento y la segunda degrada 1-aminociclopropano-1-carboxilato, precursor del etileno (Glick *et al.*, 2007), de tal forma que la reducción en los niveles de etileno por acción de BPCP puede favorecer el crecimiento de las plantas (Ghosh *et al.*, 2003). En particular, las bacterias de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Mesorhizobium* con frecuencia se reportan como BPCP y establecen simbiosis benéfica con ciertas especies de la familia Fabaceae (antes leguminosas) (Koo y Cho, 2009). Además de ser BPCP, las bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Azomonas* (Ahemad *et al.*, 2014) son precursoras para la colonización de sitios afectados por contaminantes (Gueffrachi *et al.*, 2013). Sin embargo, para su uso en la fitorremediación de ambientes conta-

minados con elementos potencialmente tóxicos (EPT), las BPCP deben tolerar la presencia de estos elementos. Los objetivos de este trabajo fueron: 1) aislar cepas tolerantes a altas concentraciones de EPT, a partir de nódulos del huizache (*Acacia farnesiana*), trébol blanco (*Trifolium repens*), y de suelo rizosférico procedente de sitios contaminados con residuos de mina provenientes de Zimapán, Hidalgo, México. 2) caracterizar las bacterias seleccionadas mediante pruebas de tolerancia a sales y EPT, producción de ácido indolacético (AIA), actividad de la enzima ACC-desaminasa, solubilización de fósforo y producción de sideróforos para identificar su potencial como BPCP y posible aplicación en la fitoestabilización de EPT en sitios altamente contaminados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se recolectaron raíces noduladas de huizache (*Acacia farnesiana*) del municipio de Tepeji del Río, Hidalgo, muestras de suelo rizosférico de huizache establecidas en residuos de mina de Zimapán, Hidalgo, así como raíces noduladas de trébol blanco (*Trifolium repens*) procedentes del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Las raíces recolectadas se lavaron con agua corriente (doméstica) hasta eliminar los residuos de suelo y se dejaron secar. Los nódulos más grandes y con mejor apariencia se separaron cuidadosamente, procurando dejar un fragmento de raíz. Estos se desinfectaron superficialmente y luego se maceraron e inocularon en cajas Petri con agar Extracto de Levadura Manitol Rojo Congo. Las cajas se incubaron a 28 °C durante 72 h (Vincent, 1975). Para el aislamiento de bacterias de suelo rizosférico, se usó 1 g de suelo, se añadió a tubos de ensayo con 5 mL de caldo nutritivo. Estos se incubaron a 28 °C durante 24 h. Posteriormente, este inóculo se sembró por estría cruzada en medios selectivos King y MConkey con resiembra consecutivas hasta obtener cepas puras. La identificación molecular se realizó mediante la extracción de ADN con el Kit Wisard Genomic DNA Purification[®]. El análisis de secuenciación se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ingeniería Química (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). La secuencia de 16S rDNA se comparó con la base de datos GenBank mediante el programa BLAST del NCBI (NCBI, 2014). Las bacterias se caracterizaron por su capacidad para tolerar NaCl (condición adversa que también se observa algunas veces en sitios contaminados con EPT), Cd, Cu, Zn y Pb. Además, se caracterizaron en su producción de ácido indolacético (AIA; Ehman, 1977), actividad de la enzima ACC-desaminasa (Saleh y

Glick, 2001), producción de sideróforos (Schwyn y Neillands 1987) y solubilización de fósforo (Watanabe y Olsen, 1965).

Microscopia electrónica de barrido y análisis de rayos X

Las bacterias creciendo en los medios de cultivo suplementados con EPT se observaron por microscopia electrónica. Fragmentos de agar con crecimiento bacteriano se fijaron por 12 h en glutaraldehído al 2.5% en solución tampón de fosfatos Sorensen 0.1 M (pH 7.2). Después de un enjuague con solución tampón Sorensen se procedió a la deshidratación en una serie de concentraciones crecientes de etanol por 2 h de incubación. Las muestras se cubrieron con oro y paladio. Las observaciones se realizaron en la unidad de Microscopia Electrónica del Colegio de Postgraduados, utilizando un equipo JEOL JSM 6390. Se utilizó un voltaje de aceleración de 10 Kv. Para determinar la composición de EPT en las muestras se empleó un microanalizador de rayos X de dispersión de energía (EDX-OXFORD Instruments INCA X-act). El tiempo de conteo para la obtención de los espectros de rayos X fue de 60 s. Los datos obtenidos se analizaron mediante varianza y comparación de medias usando la prueba de diferencia significativa honesta de Tukey con nivel de significancia de 0.05 mediante el programa estadístico R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación molecular de bacterias

Se aislaron siete bacterias a partir de nódulos de huizache (Af1, Af3, Af4, Af5, Af6, Af7 y Af8), una cepa procedente de trébol (T2) y cinco de suelo rizosférico de residuo de mina (MC119, K120, K123, K131 y K162). Las bacterias Af3, Af4, Af5, Af6, Af7, Af8, Mc119, K120, K123, K131, K163 se caracterizaron como de rápido crecimiento y las cepas Af1 y T2 de lento crecimiento (Figura 1). Estas secuencias mostraron coincidencias más cercanas a los géneros *Alcaligenes*, *Mesorhizobium*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Serratia* y *Enterobacter*. Los géneros *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Mesorhizobium* y *Serratia* se relacionan frecuentemente con promoción de crecimiento vegetal (Hao et al., 2012; Kumar et al., 2008), y con la respuesta favorable que tienen a la presencia de EPT, lo cual sugiere ventajas para su aplicación en ambientes perturbados con estos conta-

minantes. Aunque las bacterias (Af3, Af4, Af5 y Af6) se aislaron de nódulos de *A. farnesiana*, los géneros identificados molecularmente correspondieron a cepas de *Agrobacterium*. En la literatura se percibe que existe controversia en nomenclatura y clasificación taxonómica en las especies de *Agrobacterium*. Young et al. (2001) mencionan que *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Sinorhizobium* y *Allorhizobium* son géneros incluidos dentro de la familia Rhizobiaceae; y el análisis comparativo de 16S rDNA mostró que algunas especies de *Agrobacterium* forman un grupo monofilético con todas las especies de *Rhizobium*. Koivunen et al. (2011) mencionan que Young et al. (2001) propusieron cambio en la nomenclatura y clasificación taxonómica de *Agrobacterium tumefaciens* por *Rhizobium radiobacter*. Sin embargo, el nuevo nombre no se ha aceptado. Aunque Koivunen et al. (2011) reportan que *A. tumefaciens* (*R. radiobacter*) es un microorganismo patógeno de plantas, Sawada et al. (1993) establecieron que, de todos los miembros del género *Agrobacterium*, *A. radiobacter* es el único que no forma tumores o crecimiento anormal de la raíz, por lo que la característica de patogenicidad debería eliminarse de las especies de *Agrobacterium*. Otro aspecto

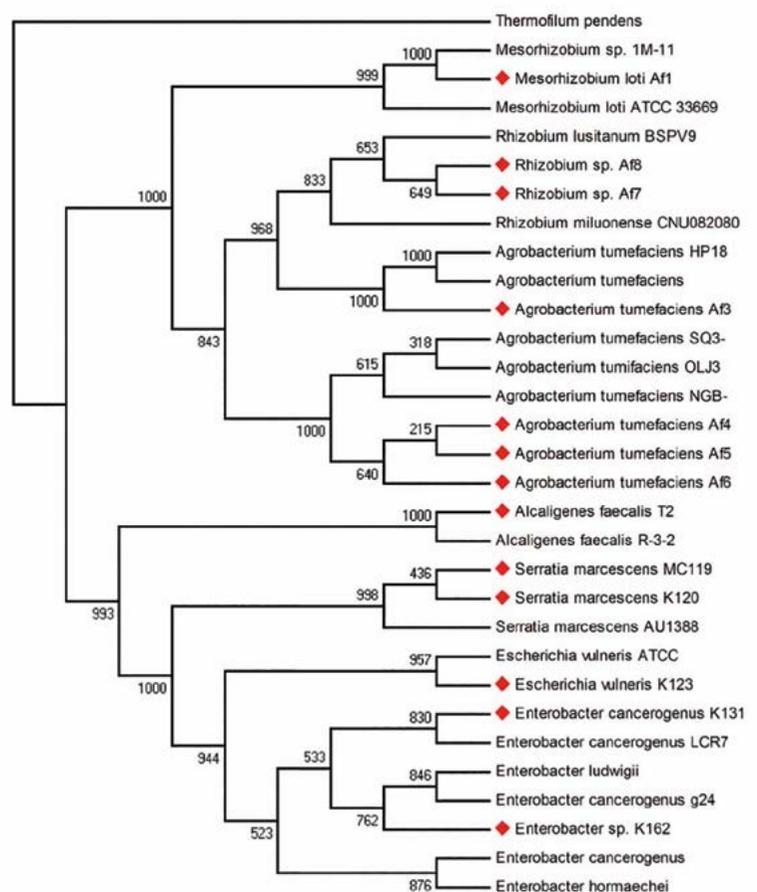


Figura 1. Filogenia de las bacterias aisladas. En rombos de nódulos radicales y suelo rizosférico de la zona minera de Zimapán, Hidalgo.

de interés fue que la cepa T2, aislada de nódulos de trébol y que bioquímicamente se ubicó como rizobia, la prueba molecular la identifica como *A. faecalis*. No se ha reportado que esta bacteria forme nódulos ni se le ha relacionado con el género *Rhizobium* o la familia Rhizobiaceae, por lo que su identificación, así como su capacidad de nodular trébol, deberían corroborarse. Esta cepa bacteriana mostró secretar AIA y ser tolerante a NaCl. Los reportes de Barazani y Friedman (1999) muestran que *A. faecalis* se comportó como promotora del crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*). Otros autores han mostrado que puede clasificarse como cepa tolerante a sales y ser patógena potencial de humanos (Egamberdieva *et al.*, 2008). Por tanto, resulta relevante verificar la patogenicidad de estas cepas antes de utilizarlas para fitorremediación.

Caracterización bacteriana

Las 13 cepas bacterianas aisladas toleraron NaCl a 2% de NaCl, lo que implica una fuerza iónica (I) de 0.34 mM. Sin embargo, las bacterias T2, Af4 y Af6 procedentes de nódulos y la MC119, K120, K123, K131 y K162 de suelo rizosférico resultaron tolerantes a 5% de NaCl (I=0.85 M), efecto similar a los que reporta Ghittoni y Bueno (1996) con cepas BPCP. Yelton *et al.* (1983) aislaron cepas de *Rhizobium meliloti* (*Sinorhizobium meliloti*), las cuales propusieron como altamente tolerantes a NaCl porque crecieron en 1.8% y hasta 4.2% (300-700 mM) de este

compuesto. Lo anterior sugiere una ventaja biológica para el uso biotecnológico de estos microorganismos, debido a que se ha sugerido que concentraciones superiores a 100 mM (0.6%) de NaCl inhiben el desarrollo de ciertas especies bacterianas (Gueffrachi *et al.*, 2013). En cuanto a la producción de AIA, las cepas Af3 y Af7 mostraron concentración menor a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Cuadro 1). Asimismo, las bacterias T2, Af4, Af5, Af8, MC119, K120, K123 y K162 tuvieron concentración menor a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Estos valores son parecidos a los observados por Zhang *et al.*, (2011) en cepas de *Enterobacter* sp. Sin embargo, Af1 y Af6 produjeron la mayor concentración de AIA (19.1 y $13.1 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente).

Estos valores son bajos en comparación con los reportes de Belimov *et al.* (2005) en cepas de *Variovorax* (superior a $30 \mu\text{g mL}^{-1}$) o de Yu *et al.* (2014) con cepas de *Bacillus* sp., *Rhizobium* sp. y *Ochrobactrum* sp., éstas procedentes de residuos de mina (entre $2.2 \mu\text{g mL}^{-1}$, hasta $83 \mu\text{g mL}^{-1}$). Únicamente cinco cepas MC119, K120, K123, K132 y K162 mostraron la capacidad de solubilizar fósforo en medio sólido. En medio líquido, la concentración de P soluble se estimó entre 0.10 a 0.46 mg L⁻¹. No hubo diferencia en la solubilización de P de las cepas MC119, K120, K123, K131 y K162. Sin embargo, estos valores fueron menores a los reportados por Tejera-Hernández *et al.*, (2013) en cepas de *Bacillus* sp. (0.23 hasta 11.58 mg L⁻¹). La producción de sideróforos se

Cuadro 1. Caracterización bioquímica de bacterias como promotoras del crecimiento vegetal realizadas a 13 bacterias aisladas de nódulos y suelo rizosférico.

Cepa	Producción de Indol $\mu\text{g IAA mL}^{-1}$	Solubilización de fosfatos		Producción de sideróforos	Actividad enzimática ACC-desaminasa $\mu\text{M } \alpha\text{KB mg}^{-1} \text{h}^{-1}$
		Cualitativa	Cuantitativa mg L^{-1}		
Af1	19.10±0.71 a	-	-	-	2.55±0.12 abc
T2	7.62±0.58 def	-	-	-	1.85±0.14 cdef
Af3	4.91±0.62 g	-	-	+	3.16±0.14 a
Af4	8.66±0.36 d	-	-	+	2.82±0.11 a
Af5	6.96±0.61 ef	-	-	+	2.08±0.11 bcde
Af6	13.14±0.64 b	-	-	+	2.34±0.10 abcd
Af7	4.89±0.75 g	-	-	+	2.50±0.10 abcd
Af8	6.61±0.40 f	-	-	+	2.99±0.11 a
MC119	8.73±0.02 d	+	0.36±0.16 ab	-	1.05±0.13 f
K120	8.73±0.03 d	+	0.42±0.04 a	-	2.66±0.46 abc
K123	8.28±0.07 de	+	0.18±.08 bcd	+	1.41±0.42 ef
K131	10.52±0.06 c	+	0.23±.018 abc	+	0.09±0.02 g
K162	8.40±0.06 d	+	0.10±0.00 cd	+	1.68±0.31 def

Se muestran promedios y desviación estándar, n=3.

*Letras iguales indica medias estadísticamente similares, Tukey ($\alpha=0.05$).

No obstante, este recubrimiento no se presentó en el cultivo de la misma cepa sin Cd (Figura 2a), resaltando que T2 fue tolerante a la concentración de Cd.

Los resultados indicaron presencia de 54% de Cd en la superficie de la cubierta y 41% de Cd en la parte interna del cultivo bacteriano (Figura 2c). El registro de altos picos de fósforo probablemente indica precipitación de Cd del entorno bacteriano en forma de $Cd_3(PO_4)_2$. Lo anterior sugiere respuesta de la bacteria a la presencia de Cd (Sayyed *et al.*, 2015). Valls y de Lorenzo (2002) y Carrasco *et al.* (2005) propusieron que ciertas bacterias en estas condiciones efectúan procesos de detoxificación, biosorción, precipitación y transformación enzimática de metales, y tales mecanismos permiten su aplicación con fines de remediación ambiental.

CONCLUSIONES

Las 13 cepas aisladas de nódulos de huizache o de trébol y de suelo rizosférico procedente de sitios con residuos de mina mostraron características con potencial, como BPCP, en particular las bacterias *Mesorhizobium loti* Af1, *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) Af6, *Enterobacter cancerogenus* K131, *Escherichia vulneris*. K123, *Enterobacter* sp. K162. Los ensayos de tolerancia a NaCl revelaron que ocho cepas fueron altamente tolerantes a 5% a ésta, seis fueron tolerantes a concentraciones superiores a 168 mg L⁻¹ de Cd, 95 mg L⁻¹ de Cu; once crecieron en concentración de 207 hasta 1,036 mg L⁻¹ de Pb y de 6 hasta 2,000 mg L⁻¹ de As, valores superiores a los que reportan otros autores con los mismos EPT. Asimismo, once toleraron de 33 hasta 196 mg L⁻¹ de Zn, lo cual sugiere el potencial biotecnológico para su aplicación en la promoción del crecimiento y desarrollo de plantas en sitios con alto grado de con-

taminación por EPT. Dicho potencial debe verificarse al inocular las bacterias en plantas que se establezcan en suelos contaminados para comprobar su efecto; sin embargo, primero debe descartarse que sean patógenos de humanos o plantas.

Agradecimientos

Noguez-Iniesta J.A. agradece al CONACYT por la beca de maestría otorgada para sus estudios.

LITERATURA CITADA

- Ahemad M., Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26: 1-20.
- Altimira F., Yáñez C., Bravo G., González M., Rojas L., Seeger M. 2012. Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile. *BioMed Central Microbiology* 12: 193.
- Barazani O.Z., Friedman J. 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth mediating bacteria? *Journal of Chemical Ecology* 10: 2397-2406.
- Belimov A., Hontzeas N., Safronova V., Demchinskaya S., Piluzza G., Bullitta S., Glick B. 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry* 37: 241-250.
- Carrasco J.A., Armario P., Pajuelo E., Burgos A., Caviedes A., López R., Chamber M.A., Palomares A.J. 2005. Isolation and characterization of symbiotically effective *Rhizobium* resistant to arsenic and heavy metals after the toxic spill at the Aznalcóllar pyrite mine. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1131-1140.
- Engamberdieva D., Kamilova F., Validov S., Gafurova L., Kucharova Z. 2008. High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environmental Microbiology* 10: 1-9.

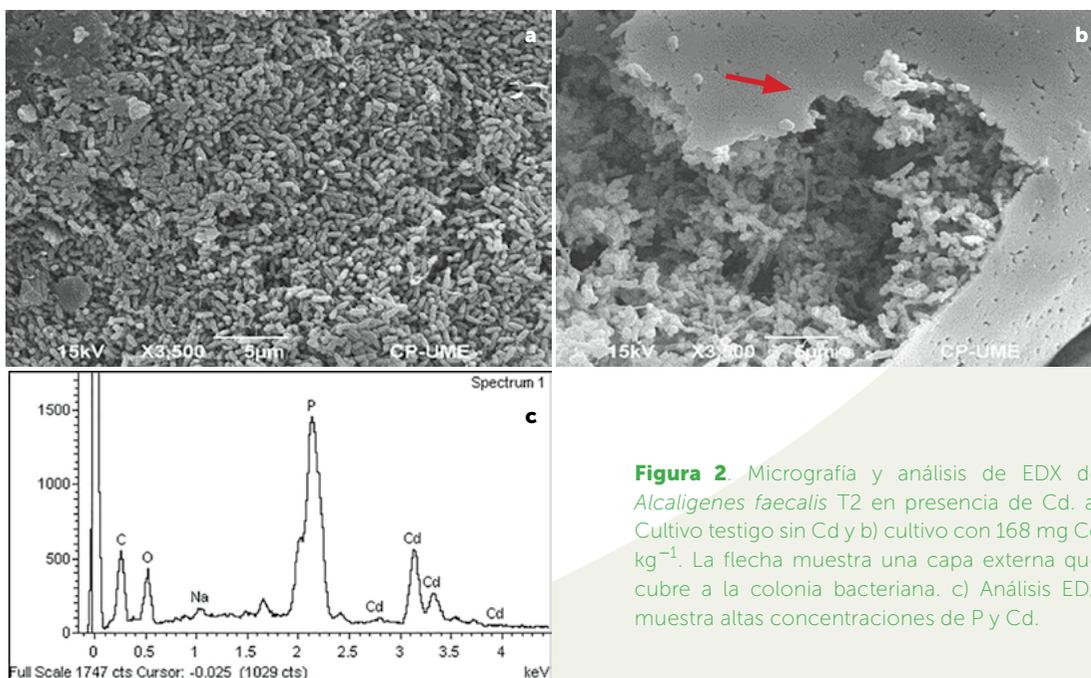


Figura 2. Micrografía y análisis de EDX de *Alcaligenes faecalis* T2 en presencia de Cd. a) Cultivo testigo sin Cd y b) cultivo con 168 mg Cd kg⁻¹. La flecha muestra una capa externa que cubre a la colonia bacteriana. c) Análisis EDX muestra altas concentraciones de P y Cd.

- Ehmann A. 1977. The Van Urk-Salkowski reagent-a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. *Journal of Chromatography* 132: 267-276.
- Gaonkar T., Bhosle S. 2013. Effect of metals on a siderophore producing bacterial isolate and its implications on microbial assisted bioremediation of metal contaminated soils. *Chemosphere* 93: 1835-1843.
- Ghittoni N., Bueno M. 1996. Changes in the cellular content of trehalose in four peanut rhizobia strains cultured under hypersalinity. *Symbiosis* 20: 117-127.
- Glick B., Cheng Z., Czarny J., Duan J. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology* 119:329-339.
- Ghosh S., Penterman J., Little R., Chavez R., Glick B. 2003. Three newly isolated plant growth-promoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 277-281.
- Gueffrachi I., Rejili M., Mahdhi M., Mars M. 2013. Assessing genotypic diversity and symbiotic efficiency of five rhizobial legume interactions under cadmium stress of soil phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 15: 938-951.
- Hao X., Xie P., Johnstone L., Miller S.J., Rensing C., Wei G. 2012. Genome sequence and mutational analysis of plant growth promoting bacterium *Agrobacterium tumefaciens* CCNWX0286 isolated from a zinc-lead mine tailing. *Applied and Environmental Microbiology* 78: 5384-5394.
- Jin Z., Sha W., Zhang Y., Zhao J., Ji H. 2013. Isolation of *Burkholderia cepacia* JB12 from lead and cadmium-contaminated soil and its potential in promoting phytoremediation with tall fescue and red clover. *Canadian Journal of Microbiology* 59: 449-455.
- Koivunen ME, Morisseau C., Horwath W.R., Hammock BD. 2011. Isolation of a strain of *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) utilizing methylene urea (ureaformaldehyde) as nitrogen source. *Canadian Journal Microbiology* 50: 167-174.
- Kumar K.V., Singh N., Behl H.M., Srivastava S. 2008. Influence of plant growth promoting bacteria and its mutant on heavy metal toxicity in *Brassica juncea* grown in fly ash amended soil. *Chemosphere* 72: 678-83.
- Koo S., Cho K. 2009. Isolation and characterization of a plant growth-promoting rhizobacterium, *Serratia* sp. SY5. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19: 1431-1438.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2014. U.S. National Library of Medicine. Sitio web: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Fecha de acceso: 20/01/2015
- Saleh S.S., Glick B.R. 2001. Involvement of *gacS* and *rpoS* in enhancement of the plant growth-promoting capabilities of *Enterobacter cloacae* CAL2 and *Pseudomonas putida* UW4. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 698-705.
- Sawada H., Leki H., Oyaizu H., Matsumoto S. 1993. Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 43:694-702.
- Sayed R., Patel P., Shaikh S. 2015. Plant growth promotion and root colonization by EPS producing *Enterobacter* sp. RZS5 under heavy metal contaminated soil. *India Journal of Experimental Biology* 53: 116-123.
- Schwyn B., Neilands J.B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160: 47-56.
- Shahzad S., Arif M., Riaz M., Iqbal Z., Ashraf M. 2013. PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays* L.) under fertilized conditions. *European Journal of Soil Biology* 57: 27-34
- Sheng X., Xia J. 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere* 64: 1036-1042.
- Tejera-Hernández B., Heydrich-Pérez M., Rojas-Badía M. 2013. Aislamiento de *Bacillus* solubilizadores de fosfatos asociados al cultivo del arroz. *Agronomía Mesoamericana* 24: 357-364.
- Valls M., de Lorenzo V. 2002. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiology Reviews* 26: 327-338.
- Vessey K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.
- Vincent, J. 1975. *Manual práctico de Rizobiología*. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 200 p.
- Wani P.A., Khan M.S. 2013. Nickel detoxification and plant growth promotion by multi metal resistant plant growth promoting *Rhizobium* species RL9. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 91:117-124.
- Watanabe F.S., Olsen S.R. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorous in water and NaHCO₃ extracts from soil. *Soil Science Society of America Journal* 29: 677-678.
- Young J.M., Kuykendall L.D., Martínez-Romero E., Kerr A., Sawada H. 2001. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 89-103.
- Yelton M., Yang S., Edie S., Lim S. 1983. Characterization of an effective salt-tolerant, fast growing strain of *Rhizobium japonicum*. *Journal of General Microbiology* 129:1537-1547.
- Yu X., Li Y., Zhang C., Liu H., Liu J., Zheng W., Kang X. 2014. Culturable heavy metal-resistant and plant growth promoting bacteria in V-Ti magnetite mine tailing soil from Panzhihua, China. *PLoS ONE* 9: e106618.
- Zhang Y., He L., Chen Z., Wang Q., Qian M., Sheng X. 2011. Characterization of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from copper-tolerant plants and their potential in promoting the growth and copper accumulation of *Brassica napus*. *Chemosphere* 83: 57-62.

Ricinus communis L., Y *Pseudomonas* sp. PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE MINA

Ricinus communis AND *Pseudomonas* sp. USED FOR THE REMEDIATION OF POLLUTED SOILS WITH MINE RESIDUES

Ruiz-Olivares A.¹, González-Chávez M.C.A.^{1*}, Carrillo-González R.¹

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

*Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Existe poca información del uso de microorganismos asociados a plantas para remediar suelos contaminados con residuos de mina, los cuales contienen elementos potencialmente tóxicos (EPT). En los estudios actuales se utilizan soluciones hidropónicas o suelos artificialmente contaminados. El presente trabajo consideró la mezcla de residuos de mina con suelo (0%, 33%, 66% y 100%) y la inoculación con *Pseudomonas* sp. y uso de *Ricinus communis*. Se determinó la tolerancia de esta bacteria a diferentes concentraciones de Cu, Zn, Cd y Pb, y la capacidad para formar emulsiones (E_{24}), parámetro indicador de la presencia de biosurfactantes. Además, se analizó el efecto de la inoculación en el crecimiento de *R. communis*. La bacteria fue tolerante a las concentraciones de los EPT bajo estudio. Solo Zn en 9 mM inhibió significativamente su crecimiento. Todas las concentraciones de Cu y Zn inhibieron la E_{24} . Solo en la menor concentración de Cd (0.05 mM) se observó capacidad emulsificante. El Pb indujo la E_{24} a los seis días de incubación. El efecto benéfico de la inoculación de *R. communis* con *Pseudomonas* sp. en biomasa aérea fue significativo a 0% y 33% de residuo de mina: suelo. No se observó modificación en la acumulación en la parte aérea de los EPT por influencia de la inoculación. Por la capacidad de *R. communis* y la tolerancia a EPT de *Pseudomonas* sp. se plantea su posible uso en la remediación.

Palabras clave: remediación asistida con bacterias, biosurfactantes, metales pesados.

ABSTRACT

There is scarce information about the use of microorganisms associated to plants to remediate polluted soils with mine residues, which contain potentially toxic elements (PTE). In the current studies, hydroponic solutions or artificially contaminated soils have been used. This study considered the mixture of mine residues with soil (0%, 33%, 66% and 100%), the inoculation with *Pseudomonas* sp. and use of *Ricinus communis*. The tolerance of this bacteria to different concentrations of Cu, Zn, Cd and Pb was determined, and the capacity to form emulsions (E_{24}), parameter that is indicator of the presence of biosurfactants. In addition, the effect of the inoculation on the growth of *R. communis* was analyzed. *Pseudomonas* was tolerant to the concentrations of the PTE under study. Only Zn in 9 mM inhibited significantly its growth. All the concentrations of Cu and Zn inhibited the E_{24} . Only in the lowest concentration of Cd (0.05 mM) the emulsifying capacity was observed. Pb induced the E_{24} at six days of incubation. The beneficial effect of the inoculation of *R. communis* with *Pseudomonas* sp., in aerial biomass was significant at 0% and 33% of mine:soil residue. No modification

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 48-56.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.

was observed in PTE aerial accumulation by inoculation effect. Because of the capacity of *R. communis* and the tolerance to PTEs of *Pseudomonas* sp. their possible use in remediation is suggested.

Keywords: bacteria aided remediation, biosurfactants, heavy metals.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo por elementos potencialmente tóxicos (EPT) es una preocupación actual a nivel mundial. Las principales fuentes de introducción al ambiente son la minería, industria y agricultura (Dudka y Adriano, 1997). Debido al incremento en la demanda de materia prima, la actividad minera ha crecido a un ritmo acelerado en los últimos años. Esto conlleva el aumento en la cantidad de los residuos generados, así como el incremento de sitios de depósito. Además, debido al escaso o nulo manejo que se les da, incrementan el riesgo ambiental. Los residuos de mina contienen altas concentraciones de EPT, pobre contenido de nutrientes y materia orgánica, alta conductividad eléctrica; así como baja capacidad de retención de humedad (Wong, 2003). Además, pueden dispersarse por el viento y el agua (Puga *et al.*, 2006), oxidarse y reducir su pH, lo que puede aumentar la biodisponibilidad de los EPT (Akciil y Koldas 2006). Debido a estas características, pocos organismos pueden colonizar los sitios contaminados con desechos de mina (González-Chávez, 2005), generando áreas improductivas. La introducción de plantas a sitios contaminados con residuos de mina a través de la fitoestabilización es una alternativa que ha sido propuesta por varios autores para prevenir la dispersión de EPT y disminuir su riesgo de toxicidad. Esta es una opción práctica, de bajo costo y aplicable *in situ* (Vangrosveld, 1993). Una especie vegetal con potencial para su uso en fitorremediación es *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), la cual además de registrar uso como bioenergético, algunas investigaciones muestran su potencial en la fitorremediación de sitios contaminados con EPT (Rajkumar y Freitas, 2008). Se ha sugerido que, además de ser una planta prospecto para la remediación, podría aprovecharse para producir aceite en suelos contaminados con residuos de mina (Ruiz-Olivares *et al.*, 2013). Estos autores reportaron que plantas de *R. communis* naturalmente establecidas en residuos de mina produjeron semilla con alto contenido de aceite (40%-64%), y las plantas se comportaron como excluidoras de EPT, es decir, no acumularon altas concentraciones de los contaminantes en su follaje. De igual manera, su aceite y la torta resultante del desecho de la semilla a la cual se le extrajo el aceite no tuvieron altas concentraciones de EPT. El aceite tuvo mayor contenido de ácido linoleico, uno de los más deseables para incrementar su calidad como biocombustible, por lo que el aceite y sus bioproductos (torta y biomasa) son productos de la planta, candidatos factibles de usarse biotecnológicamente; además de biocombustible como fertilizantes, mejorador de suelo o participar en el secuestro de carbono (González-Chávez *et al.*, 2015). Aunque algunas plantas son capaces de crecer en diversos sitios contaminados, estabilizar los EPT en el área de su rizósfera y llegar a la fructificación no siempre es fácil (Barceló y Poschenrieder, 2003). Existen ciertas condiciones biológicas y químicas poco entendidas para que plantas tolerantes logren en la práctica establecerse en un residuo de mina. Por tanto, al-

gunos autores han sugerido utilizar microorganismos benéficos, tales como bacterias y hongos asociados a las raíces de las plantas para remediar un sitio contaminado (González-Chávez, 2005). Las bacterias pueden contribuir al crecimiento de una planta a través de la producción de ácido indol acético y giberélico para promover su crecimiento (Patten y Glick, 2002), también a través de la producción de biosurfactantes o emulsificantes, sustancias que pueden enlazarse a EPT y modificar su disponibilidad (Deleu y Paquot, 2004; Pacwa-Plociniczak *et al.*, 2011). El objetivo de la presente investigación fue determinar la tolerancia *in vitro* de *Pseudomonas* sp., aislada de un residuo de mina a diferentes concentraciones de EPT, determinando *in vitro* su producción de surfactantes en presencia de diferentes concentraciones de EPT, así como, evaluar en condiciones de invernadero, el efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sp. en el crecimiento de *R. communis* y la acumulación de EPT al crecer en tres niveles de adición de residuo de mina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tolerancia y capacidad emulsificadora de *Pseudomonas* sp. a EPT

Se estudió *in vitro* la tolerancia de *Pseudomonas* sp. a cuatro concentraciones de Cd (0, 0.5, 1.0 y 1.5 mM), de Pb (0, 1.0, 2.5 y 4.0 mM), de Cu (0, 2, 4 y 6 mM) y de Zn (0, 3.0, 6.0 y 9.0 mM). Se utilizaron sales de sulfato de todos los EPT estudiados y el pH se ajustó en todos los casos a 5.8. Las condiciones de incubación fueron 30 °C y 150 rpm. Diariamente se cuantificó la biomasa bacteriana a través de la absorbancia con un espectrofotómetro UV-Visible Cary Varian 50. Se establecieron tres repeticiones por

tratamiento, teniendo un total de 42 tubos como unidades experimentales. Los tubos se centrifugaron a 8000 rpm durante ocho minutos. El líquido sobrenadante, medio libre de células, se utilizó para determinar la capacidad de emulsión de *Pseudomonas* sp., influenciadas por las diferentes concentraciones de EPT. La formación de emulsiones se cuantificó por el método E₂₄ (Cooper y Goldenber, 1987).

Efecto de la asociación de *Pseudomonas* sp. con *Ricinus communis*

El residuo de mina se colectó en Zimapán, Hidalgo, México, en el depósito Santa María. El suelo agrícola se colectó en el Colegio de Postgraduados en Texcoco, Estado de México. Ambos materiales por separado se secaron a la sombra y tamizaron a través de una malla de 2 mm de apertura. Se prepararon las dos mezclas de crecimiento y el residuo de mina (33% y 66% m/m). Se establecieron dos tratamientos adicionales con 0% de residuo (solo suelo agrícola) y solo residuo de mina (100%). Los sustratos de crecimiento se colocaron en bolsas de plástico negro de 10 cm de diámetro por 60 cm de largo; estas se regaron a 80% de la capacidad de campo con agua destilada y se incubaron para el equilibrio de los EPT durante dos semanas. Transcurrido este tiempo se tomaron muestras de cada unidad experimental para su caracterización física y química. El pH se midió con un potenciómetro Orion Research 601 y la conductividad eléctrica (CE) con un puente de conductividad YSI 31. La materia orgánica (MO) se cuantificó por el método de pérdida por incineración (Dean, 1974). Se determinó la concentración total de EPT por el método EPA 3050B (EPA 1996) y la concentración extractable de EPT (DTPA-extractable; Lindsay y Norvel, 1978). Las semillas de *R. communis* se recolectaron de la mina Santa María en Zimapán, Hidalgo, se lavaron con agua potable y enjuagaron con agua destilada. Se sembraron tres semillas por unidad experimental y después de que emergieron se dejó una plántula por bolsa. La inoculación bacteriana se llevó a cabo 20 días después de la siembra, cuando 50% de las plantas presentaron la primera hoja verdadera. El inóculo consistió en una suspensión bacteriana con absorbancia de 0.5 a 600 nm. Los tratamientos inoculados recibieron 10 mL de la suspensión bacteriana y los no inoculados, 10 mL de agua destilada estéril. Después de la inoculación, semanalmente se midió la altura de las plantas. Al final del experimento (175 días) se cuantificó la biomasa seca aérea y de raíz; además, se determinó el volumen radicular por desplazamiento de volumen y se midió el área

foliar. Los datos obtenidos se analizaron con el software SAS System v. 9.0, con un modelo lineal general, prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) y correlaciones de Pearson ($\alpha=0.05$). Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) con una matriz de correlación. Para ello se usó PC-ORD v. 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia y capacidad emulsificante de *Pseudomonas* sp. a diferentes EPT

Pseudomonas sp. mostró tolerancia a altas concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn (Figura 1). Solamente bajo el efecto de Zn 9 mM se obtuvo una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Nasrazadani *et al.* (2011) encontraron CMI de 0.5 mM para Cd y Cu, y de 6 mM para Zn para cepas bacterianas de *Pseudomonas* sp. aisladas de aguas residuales y el efluente de una procesadora. Pb es un elemento que causa muerte celular. No obstante, *Pseudomonas* sp. aislada de un sitio severamente contaminado con Pb mostró mayor biomasa que en los testigos en los últimos dos días de la cinética (Figura 1). La E₂₄ se afectó negativamente por los EPT estudiados. Cu y Zn inhibieron la actividad emulsificante (datos no mostrados). En los tratamientos con Pb (Figura 2) el E₂₄ aumentó constantemente y en el día seis éste fue superior al testigo ($\alpha=0.05$). Se registró correlación positiva entre la concentración de Pb y el E₂₄ ($r=0.7811$, $P=0.002$). En el caso de Cd, solo en la concentración de 0.5 mM se observó actividad emulsificante, pero ésta disminuyó paulatinamente del día 3 al 5 para finalmente inhibirse al día 6.

Efecto de la asociación de *Pseudomonas* sp. con *Ricinus communis*

El pH y la CE se registraron en intervalos apropiados para el desarrollo de las plantas en todas las mezclas de crecimiento (Richards 1973; Cuadro 1). Sin embargo, la MO fue menor en el residuo de mina (a 100%) que en el resto de los tratamientos. Las demás mezclas tuvieron contenido alto de MO de acuerdo con la NOM-021-SEMAR-NAT-2000. Cabe mencionar que con el método utilizado (LOI), el contenido de carbonatos en la mezcla puede sobrestimar la cantidad de MO presente.

La capacidad de campo de las mezclas disminuyó en relación con el contenido adicionado del residuo. El contenido de MO y la baja capacidad de campo pueden limitar el establecimiento y el crecimiento de las plantas de *R. communis* al formar un sustrato no apto para su desarrollo.

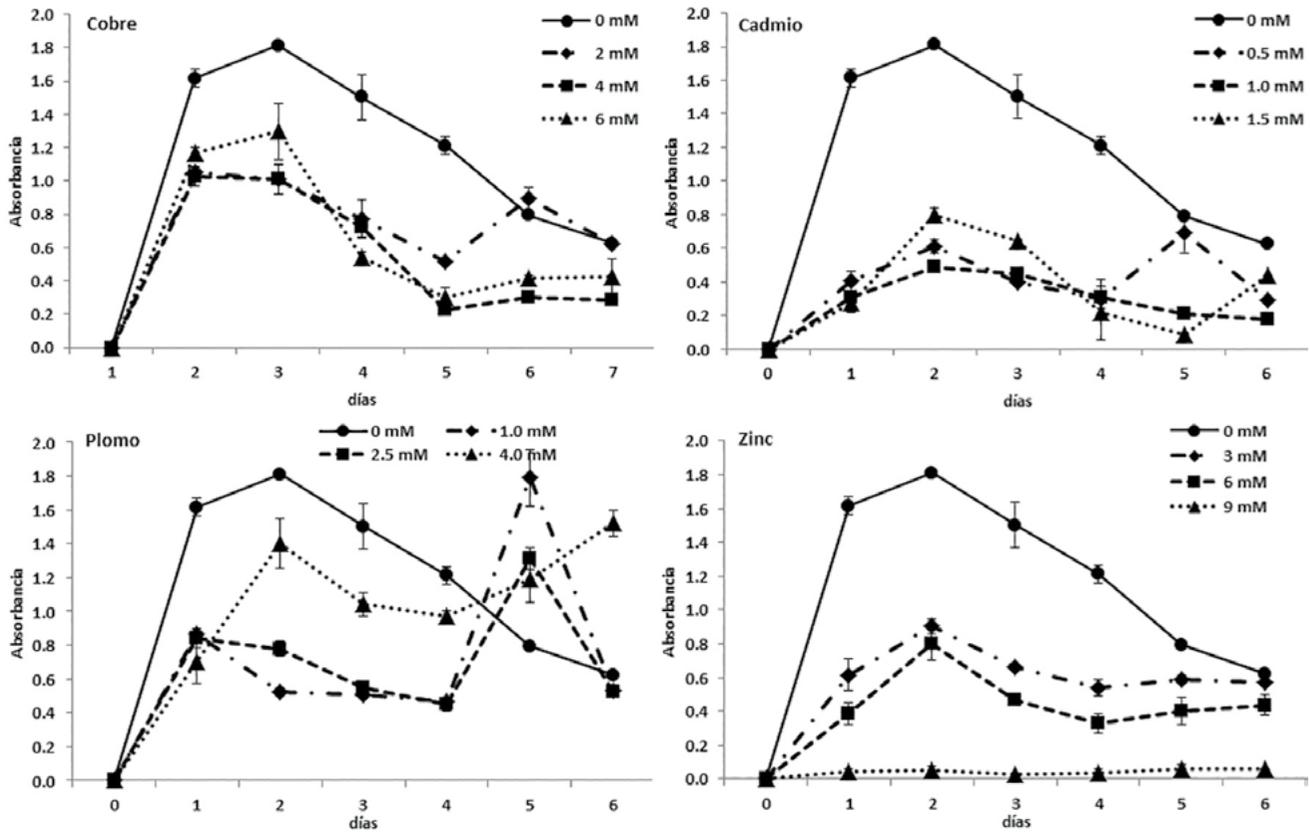


Figura 1. Cinética de crecimiento de *Pseudomonas* sp. en diferentes concentraciones de cuatro elementos potencialmente tóxicos. Se presenta el valor promedio y la desviación estándar, n=3.

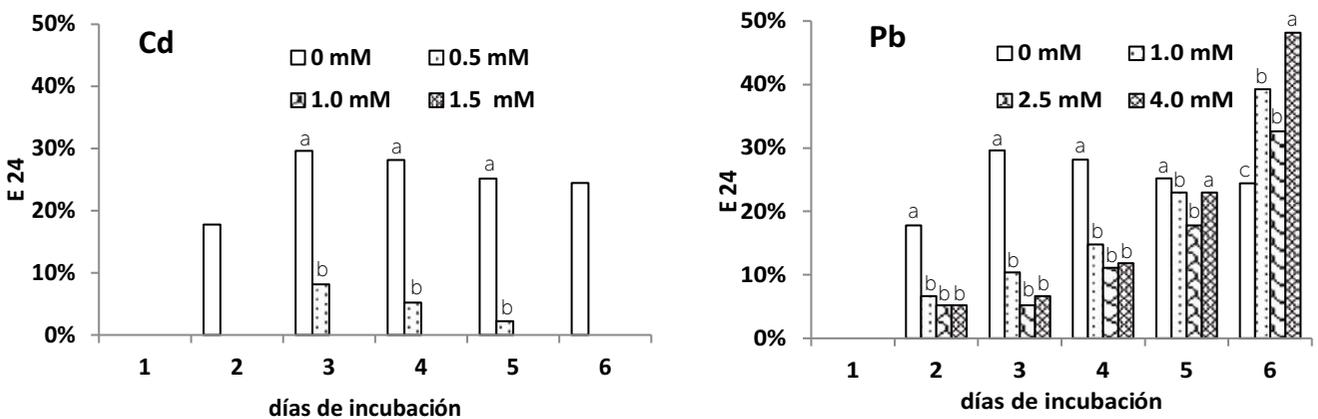


Figura 2. Cinética de la capacidad emulsificante (E₂₄) de *Pseudomonas* sp. en presencia de diferentes concentraciones de cadmio y plomo. Se presentan los promedios, n=3. Letras similares muestran que no hay diferencia significativa entre tratamientos con respecto al día de incubación de acuerdo a Tukey ($\alpha=0.05$).

La concentración total de EPT en los sustratos de crecimiento para *R. communis* se resume en el Cuadro 2. Según las concentraciones sugeridas por el Consejo Canadiense de Ministerios del Ambiente, Cd, Cu, Pb y Zn sobrepasaron el límite sugerido en el tratamiento 100% de residuo. Cd, Pb y Zn excedieron dicho límite

en la mezcla 66% de residuo. Según la normativa mexicana, solamente Pb y Zn estuvieron en una concentración en la que se recomienda proceder a la remediación a partir de la mezcla 33% residuo. Los EPT se encuentran en altas concentraciones extractables en las mezclas con residuo de mina (hasta 6.81 y

1.02 mg kg⁻¹ para Cu y Cd, respectivamente en el tratamiento 100% de residuo). Todos los EPT, excepto Ni, aumentaron su concentración extractable en relación con el contenido de residuo en las mezclas de crecimiento. A partir de la mezcla 33%, Cu y Zn sobrepasaron el límite de fitotoxicidad (Cuadro 2). Zn fue el

Cuadro 1. pH, CE (conductividad eléctrica), MO (materia orgánica), CC (capacidad de campo) en las mezclas de crecimiento para establecer *Ricinus communis* asociado a *Pseudomonas* sp.

Mezcla (% residuo minero)	pH	CE ($\mu\text{mhos cm}^{-1}$)	MO (%)	CC (%)
0	7.37 ± 0.17	329 ± 162	4.39 ± 0.44	45.7 ± 1.4
33	6.57 ± 0.21	1077 ± 287	3.92 ± 0.25	39.7 ± 1.4
66	6.34 ± 0.20	1317 ± 180	3.29 ± 0.29	32.7 ± 1.9
100	6.23 ± 0.18	845 ± 33	1.83 ± 0.50	29.7 ± 1.3

Se presentan los valores promedios y desviación estándar, n=3.

elemento que presentó mayor concentración extractable en todas las mezclas, seguido por Pb, Cu y Mn. Cabe mencionar que la legislación mexicana en las normas no considera la fracción extractable de los EPT.

Cinética de crecimiento de *R. communis* inoculada con *Pseudomonas* sp.

Se observó efecto negativo del residuo a partir del día 14 de la inoculación (Figura 3). La altura de las plantas establecidas en las mezclas con residuo de mina fue estadísticamente menor ($\alpha=0.05$) que en el tratamiento testigo. Este efecto fue mayor al final del experimento y aumentó en relación con la cantidad de residuo de mina en las mezclas. Rodríguez-Elizalde *et al.* (2009) obtuvieron resultados similares. Los residuos de minas limitaron la emergencia y el crecimiento de tres especies ornamentales. Mathiyazhagan y Natarajan (2012) observaron que principalmente Cd limitó el crecimiento de *R. communis*. La influencia positiva de la inoculación se observó a partir del día 126 en la mezcla 33%

residuo de mina limitó la asociación con *Pseudomonas* sp., o disminuyó la capacidad de esta cepa bacteriana como promotora del crecimiento vegetal. La biomasa, volumen radical y área foliar fueron inversamente proporcionales a la cantidad de residuo en las mezclas de crecimiento (Cuadro 3). La biomasa aérea de las plantas establecidas con 100% de residuo fue significativamente menor ($\alpha=0.05$) que en los tratamientos sin residuo. El área foliar de las plantas establecidas en los tratamientos 100% residuo inoculados y no inoculados fue 85 y 118 veces menor que el tratamiento testigo inoculado y no inoculado, respectivamente. Se observaron correlaciones negativas entre la concentración extractable de EPT y las variables de respuesta: Cu y la altura final ($r=-0.95$), Zn y biomasa radical ($r=-0.91$), Zn y biomasa aérea ($r=-0.95$); así como Cu y área foliar ($r=-0.96$). Se observó efecto positivo de la inoculación en la biomasa aérea para 0% y 33% de residuo, así como de la biomasa de raíz con 0% residuo. Rajkumar y Freitas (2008) evaluaron la asociación de *R. communis* con *P. jessenii* y

Cuadro 2. Concentración total y extractable de EPT (mg kg^{-1}) en las diferentes mezclas de crecimiento para establecer *Ricinus communis*.

% Residuo de mina	Concentración total (mg kg^{-1})					
	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
0	6.9±1.6	9.6±3.2	189.1±45.1	19.3±3.8	124.9±6.5	222.2±59.2
33	13.9±3.0	36.8±3.9	334.1±26.3	25±4.6	738±97.8	1070.6±173.3
66	24.2±4.1	72.4±5.1	468±66.0	32.8±6.5	1166.4±147.9	2031.8±172.4
100	31.6±1.4	102.2±1.0	632±63.9	42.8±5.4	1597±146.3	2864.7±390.8
CEQC [†]	22	91		50	600	360
SEMARNAT/SSA [‡]	37			1600	400	
Concentración DTPA-extractable (mg kg^{-1})						
0	0.06±0.02	0.29±0.1	1.44±0.3	0.96±0.2	2.6±0.5	1.44±0.5
33	0.49±0.06	2.79±0.3	1.68±0.1	2.12±0.2	8.39±0.7	13.6±2.5
66	0.72±0.05	6.36±0.4	2.8±0.4	1.06±0.1	14.48±1.0	20.1±1.7
100	1.02±0.07	6.81±0.2	3.46±0.1	0.88±0.2	24.38±2.2	25.9±2.1
Fitotoxicidad [§]		>2.5	>50			>6.0

[†]CEQC=Guías Canadienses de calidad ambiental 2003 para suelos industriales. [‡]SEMARNAT/SSA (2004, NOM-147) establece las concentraciones totales para suelo de uso agrícola, residencial o comercial y sugiere proceder a la remediación, [§]Límite de fitotoxicidad de acuerdo con Ankerman y Large (1978). Se presentan los valores promedio y desviación estándar, n=3.

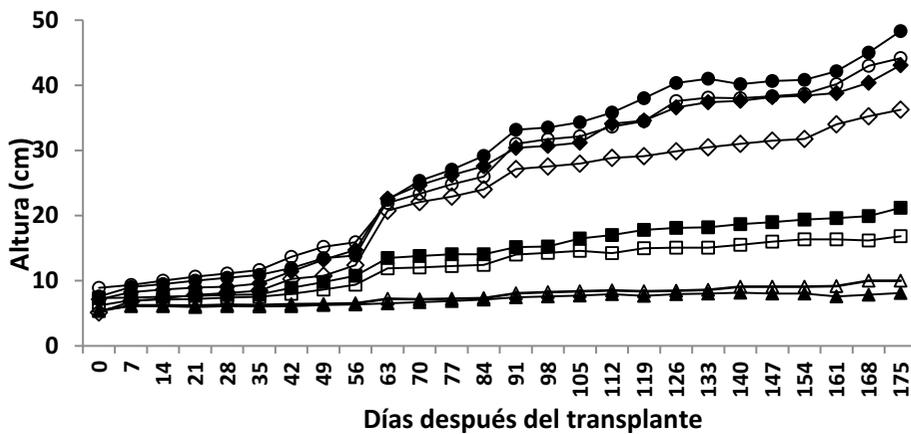


Figura 3. Cinética de crecimiento de *Ricinus communis* inoculado con *Pseudomonas* sp. en cuatro sustratos de crecimiento. Símbolos llenos indican tratamientos inoculados, símbolos vacíos tratamientos no inoculados.

▲ △ 100 %; ■ □ 66 %; ◆ ◇ 33 %; ● ○ 0 % de residuo de mina.

Pseudomonas sp. en un suelo contaminado artificialmente con Cu, Ni y Zn, y observaron con ambas cepas incremento en biomasa aérea y de raíz en *R. communis*.

De igual manera, Ma *et al.* (2009) observaron que *Acromobacter xylosoxidans* aumentó la biomasa aérea y radical e incrementó la longitud radical de *Brassica juncea*. Petrisor *et al.* (2004) mostraron que la inoculación con *Bacillus megaterium* combinada con *Azotobacter chroococcum* y la adición de lodos residuales contribuyeron positivamente a la supervivencia y desarrollo de varias especies de plantas en residuos de mina.

El tratamiento 100% residuo de mina no permitió la expresión del efecto benéfico de la inoculación con *Pseudomonas* sp. Por tanto, es necesario disminuir las elevadas concentraciones disponibles de EPT con adición de enmiendas o algún otro tratamiento agronómico para favorecer el crecimiento de *R. communis* en la remediación de los sitios contaminados con estos residuos de mina. La acumulación de EPT en la parte aérea de *R. communis*

se relacionó directamente con la concentración de estos elementos disponibles en el sustrato (Figura 4). Se encontraron concentraciones tóxicas para Ni (tratamiento 100% de residuo), Pb (33%, 66% y 100% de residuo minero) y Zn (66 y 100% de residuo de mina); sin embargo, las plantas no mostraron síntomas de fitotoxicidad y las concentraciones absorbidas no fueron suficientes para considerar a *R. communis* como una planta acumuladora (>1,000 mg kg⁻¹ Pb en tejidos de la parte aérea; van der Ent *et al.*, 2013). Ruiz-Olivares *et al.* (2013) en plantas creciendo naturalmente en campo caracterizaron a esta especie como no acumuladora. Otros investigadores reportan a *R. communis* como acumuladora (Romeiro *et al.*, 2006); sin embargo, es difícil hacer comparación porque los estudios fueron conducidos bajo condiciones de hidroponía y no en campo, y en sustratos artificialmente contaminados. Las mezclas de crecimiento utilizadas en la presente investigación tratan de abordar las condiciones reales de los residuos de mina y corroboran lo observado por Ruiz-Olivares *et al.* (2013) y González-Chávez *et al.* (2015), considerando que *R. communis* no es especie

Cuadro 3. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sp. y proporción de residuos mineros en el crecimiento de *Ricinus communis*.

% Residuo de mina / Inoculación		Altura final (cm)	Biomasa aérea (g)	Área foliar (cm ²)	Biomasa radical (g)	Volumen radical (cm ³)
100	+	8.1±2.7	0.11±0.05	8.7±0.0	0.14±0.03	2.05±0.0
	-	10±2.7	0.19±0.07	6.0±2.6	0.14±0.04	2.6±0.6
66	+	21.2±0.8	0.44±0.1	53.4±13.2	0.29±0.1	2.8±1.0
	-	16.8±1.3	0.51±0.1	43.7±13.9	0.31±0.1	4.1±1.4
33	+	43.1±1.6	4.74±0.1	397.9±35.2	2.17±0.4	19.5±5.1
	-	36.2±2.8	3.26±0.8	390.7±91.5	1.36±0.8	18.0±4.9
0	+	48.3±1.2	13.6±1.3	736.6±131.6	7.95±0.5	30.8±2.9
	-	44.2±1.2	10.8±1.2	711.3±93.3	5.34±0.9	28.0±4.7
DHS			1.36	201.23	0.94	10.24

Se presentan promedios y desviación estándar, n=3. DMS=diferencia honesta significativa, Tukey (α=0.05).

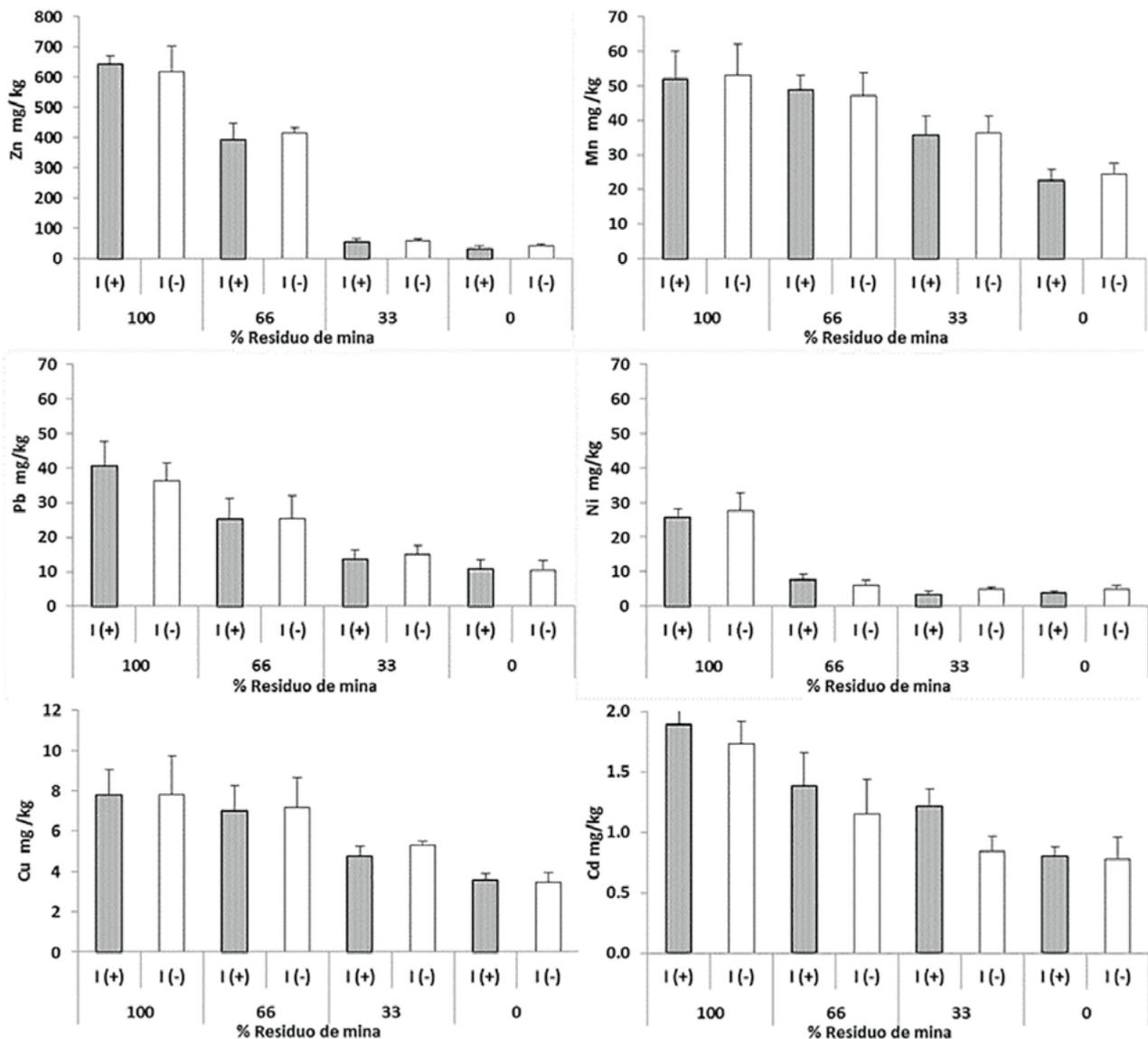


Figura 4. Concentración de metales en la parte aérea de *Ricinus communis* por influencia de la inoculación con *Pseudomonas* sp. y cuatro niveles de residuos de mina en el sustrato de crecimiento. Se muestran promedio y desviación estándar, n=3.

acumuladora de EPT. La inoculación con *Pseudomonas* sp. no influyó en las concentraciones de EPT en la biomasa aérea en ninguna de las mezclas de crecimiento. Esto es una ventaja, pues los productos derivados de esta planta pueden aprovecharse sin el riesgo que conllevan altas concentraciones de EPT. En contraste, algunos autores han observado que la inoculación bacteriana aumenta la acumulación de diferentes EPT en los tejidos de varias plantas estudiadas (Abou-Shanab et al., 2006, Rajkumar y Freitas, 2008).

El análisis de componentes principales explicó 89.75 % (p<0.0001) de la varianza de los datos en dos componentes (Figura 5). En el primero de ellos se observó una relación negativa entre la altura final de las plantas de *R. communis* con la concentración de los EPT

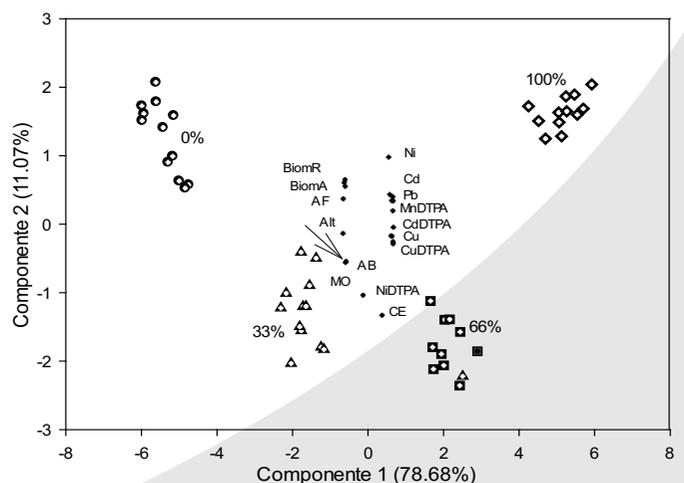


Figura 5. Biplot de componentes principales. BiomR=Biomasa radical, BiomA=Biomasa aérea, Alt=Altura, MO=Materia orgánica, AF=Área foliar. AB=Actividad bacteriana.

extractables, así como con la de éstos acumulados en hojas. De la misma forma, la acumulación de estos elementos en las hojas se relacionó positivamente con la concentración extractable en el suelo. La proporción de residuo en las mezclas generó grupos bien diferenciados entre ellos. Esto hace notar la influencia del residuo en la acumulación de EPT y en el crecimiento de las plantas. Asimismo, se observa la estrecha relación de la actividad bacteriana y la materia orgánica (señalada por la flecha). Además, se observa claramente la relación entre unidades experimentales que pertenecen a los mismos porcentajes de residuo de mina.

CONCLUSIONES

P*seudomonas* sp. es una bacteria tolerante a altas concentraciones de varios EPT (Cu, Cd, Zn y Pb). Solo a la mayor concentración de Zn (9 mM) disminuyó significativamente su crecimiento. Su capacidad emulsificadora, medida a través de E_{24} , se inhibió por la presencia de diferentes concentraciones de Cu y Zn. Solo con la menor concentración de Cd (0.5 mM) se observó E_{24} ; sin embargo, ésta fue un tercio menor a la E_{24} de las bacterias sin adición de metal. En contraste, la adición de Pb incrementó la E_{24} en todas las concentraciones probadas. Esta propiedad es relevante para modificar la disponibilidad de EPT. La inoculación de *R. communis* con *Pseudomonas* sp. puede ser de utilidad para promover el desarrollo de la planta sin incrementar la acumulación de EPT al establecerse en residuos de mina. Sin embargo, se requiere el manejo agronómico que favorezca el mayor y más rápido crecimiento de esta planta en

condiciones de alta contaminación. *R. communis* acumula baja concentración de los diferentes EPT en sus tejidos, lo que brinda una importante oportunidad que debe probarse para utilizarla en revegetar sitios con residuos de mina.

AGRADECIMIENTOS

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

LITERATURA CITADA

- Abou-Shanab R.A.I., Angleb J.S., Chaney R.L. 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2882-2889.
- Akcil A., Koldas S. 2006. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production.* 14: 1139-1145.
- Ankerman D., Large R. 1978. Soil and Plant Analysis. A & L. Agricultural laboratories, In: Barceló J., Poschenrieder C. 2003. Memphis, Tennessee. Technical Report. 82 p. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contribution to Science* 2: 333-344.
- Cooper D.G., Goldenberg B.G. 1987. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology.* 53: 224-229.
- Dean W.E. 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology.* 44: 242-248.
- Deleu M., Paquot M. 2004. From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants. *Comptes Rendus Chimie* 7: 641-646.
- Dudka S., Adriano D.C. 1997. Environmental impacts of metal ore mining processing: a review. *Journal of Environmental Quality.* 26: 590-602.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). 1996. Method 3050B. Acid digestion of sediments, sludges and soils. 12p.
- González-Chávez M.C.A. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosférico. *Terra Latinoamericana* 23: 29-37.
- González-Chávez M.C.A., Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., Rios-Leal E. 2015. Crude oil and bioproducts of castor bean (*Ricinus communis* L.) plants established naturally on metal mine tailings. *International Journal of Environmental Science and Technology.* 12: 2263-2272.
- Lindsay W.L., Norvel W.A. 1978. Development of a DTPA test from soil zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal.* 42: 421-428.
- Ma Y., Rajkumar M., Freitas H. 2009. Inoculation of plant growth promoting bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax 10 for the improvement of copper Phytoextraction by *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Management.* 90, 831-837.
- Mathiyazhagan N., Natarajan D. 2012. Impact of mine waste dumps on growth and biomass of economically important crops. *Journal of Environmental Biology.* 33: 1069-1074.
- NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.
- Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Singh C.S. 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International Journal of Molecular Sciences.* 12: 633-654.
- Patten C.L., Glick. B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology.* 68: 3795-3801.
- Petrisor I.G., Dobrota S., Komnitsas K., Lazar I., Kuperberg J.M., Serban M. 2004. Artificial inoculation-perspectives in tailings Phytostabilization. *International Journal of Phytoremediation.* 1:1-15.
- Puga S., Sosa M., Lebgue T., Quintana C., Campos A. 2006. Contaminación por metales pesados en el suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada* 5: 149-155.
- Rajkumar M., Freitas H. 2008. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* 71:34-842.
- Richards L.A. 1973. Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. (6° ed). United States Department of Agriculture. Limusa, México D.F. 172 p.

- Rodríguez-Elizalde M.A., Delgado-Alvarado A., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Mejía-Muñoz J.M., Vargas-Hernández M. 2009. Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. *Interciencia* 1: 26-32.
- Romeiro S., Lagôa A.M.M.A, Furliani P.R., de Abreu C.A., de Abreu M.F., Erismann N.M. 2006. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18, 483-489.
- Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Soto-Hernández R.M. 2013. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management*. 15: 316-323.
- SEMARNAT/SSA. 2004. NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Norma Oficial Mexicana. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Vangrosveld J., Sterckx J., Van Assche F., Clijsters H. 1993. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: effects of revegetation and metal immobilization by beringite. *Journal of Geochemical Exploration*. 5: 221-229.
- van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat H. 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil*. Mayo 2012.
- Wong M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50: 775-780.



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, Rejili 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., Huevo-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., Elias 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., Granada 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.

¿ES POSIBLE USAR SUELOS CONTAMINADOS CON ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS PARA PRODUCCIÓN DE PLANTAS DE INTERÉS BIOENERGÉTICO?

IS IT POSSIBLE TO USE SOILS POLLUTED WITH POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS FOR THE BIOFUEL CROPS PRODUCTION?

Ruiz-Olivares, A.¹, González-Chávez, M.C.A.¹, Carrillo-González, R.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. km 36.5 Carretera México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230.

Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Los biocombustibles parecen ser la fuente de energía en el futuro. La producción de bioenergéticos empieza a competir con los cultivos alimenticios por la superficie cultivable. Esto podría poner en riesgo el abasto de alimentos. Por tanto, se sugiere aprovechar áreas degradadas de escaso valor agronómico para la producción de bioenergéticos como, por ejemplo, suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT); los cuales impiden el establecimiento y desarrollo de las plantas. Minería, industria y agricultura son actividades que liberan EPT al ambiente y, para aprovechar los sitios contaminados, es necesario que los cultivos se adapten a las condiciones de dichos suelos. El presente trabajo aporta una revisión del potencial de diversas plantas de interés bioenergético para desarrollarse en suelos contaminados con EPT.

Palabras clave: biocombustibles, revaloración de suelos degradados, servicios ambientales.

ABSTRACT

Biofuels appears to be an energy resource of the future. Biofuels production has started to compete with production of food crops in fertile soils; which may be a risk to food security. Therefore, a suggested strategy is to use degraded areas with scarce agronomic value for the production of biofuels. For instance, soils polluted with potentially toxic elements (PTE), which hamper the establishment and development of plants. Mining, agriculture and other industrial activities release PTE into the environment. In order to make the most of polluted sites, plants need be adapted to the conditions of these soils. This study presents a review of various biofuel crops' potential to develop in soils polluted with PTE. This proposal must be critically and objectively assessed.

Keywords: biofuels, revaluation of degraded soils, environmental services.

INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization) define degradación de suelo como un cambio en la salud de éste, que resulta en la disminución de la capacidad del ecosistema para producir bienes o prestar servicios para sus beneficios (FAO, 2016). La contaminación de un suelo por elementos potencialmente tóxicos (EPT) limita el desarrollo de plantas y microorganismos benéficos, además de que representa riesgo para las especies animales y para la salud pública. Por ello, suelos contaminados con EPT se pueden considerar como degradados. Éstos representan sitios que, además de sus efectos negativos en el ecosistema, carecen de valor agronómico. Por ello, algunos investigadores han propuesto utilizar suelos degradados para la producción de biocombustibles (Edrisi y Abhilash, 2016; de Carvalho *et al.*, 2015; ECD, 2009; Ruiz-Olivares *et al.*, 2013), lo cual tiene ventajas adicionales, tales como asegurar que la producción de bioenergéticos no sea en tierras productivas, que no se utilicen cultivos de interés alimenticio y que el uso de biocombustibles reduzca la necesidad de energía fósil y de emisiones de CO₂ a la atmósfera. Debido a la toxicidad que estos elementos tienen para las plantas es necesario seleccionar las especies vegetales adecuadas para introducirlas en suelos contaminados con EPT, así como establecer manejo agronómico adecuado para asegurar la generación de la materia prima para la producción o elaboración de biocombustible.

Plantas de interés bioenergético aptas para desarrollarse en suelos contaminados con EPT

Ricinus communis L., de la familia Euphorbiaceae, el aceite de su semilla se ha utilizado para la producción de biodiesel. Esta planta es de fácil manejo agronómico y, soporta condiciones de sequía y estrés osmótico (Babita *et al.*, 2010), así como salinidad (Baudh y Singh, 2012). Las semillas de *R. communis* contienen alta cantidad de aceite (35%-55%) (Harborne y Baxter, 2001), y tolera altas concentraciones de EPT en diferentes condiciones. Huang *et al.* (2011) mostraron que 23 genotipos de dicha especie se desarrollaron en un suelo contaminado artificialmente con 2.8 mg kg⁻¹ de Cd y 0.35 mg kg⁻¹ DDT, y dichos autores concluyeron que esta planta es un candidato promisorio para utilizarse en la fitorremediación. Asimismo, Niu *et al.* (2007) realizaron un experimento en hidroponía y expusieron plantas de esta especie a concentraciones de hasta 200 mg L⁻¹ de Pb y 20 de mg L⁻¹ Cd. Estos autores concluyeron que *R. communis* puede usarse en la extracción de Pb y Cd. No obstante estos resultados, es necesario determinar el comportamiento de *R. communis* en condiciones reales de campo directamente en sitios contaminados. Ruiz-Olivares *et al.* (2013) realizaron la caracterización de 18 sitios; en los cuáles esta especie se desarrolló naturalmente en residuos de mina. En la rizosfera de *R. communis* se determinaron concentraciones elevadas de EPT, principalmente de Pb de hasta 3883 mg kg⁻¹ y 238 mg kg⁻¹ de Pb total y extractable (con DTPA=disponible para las plantas), respectivamente. Además, el pH de dos de estos sitios fue bajo (3.0 y 5.1). En siete, *R. communis* completó su desarrollo hasta la formación de semillas, las cuales produjeron de 41% hasta 64% de aceite. Esto es remarcable debido a que algunas variedades de esta planta creciendo en

suelos no contaminados producen hasta 55% de aceite. En un estudio posterior, la calidad del aceite de las semillas de *R. communis* provenientes de los sitios contaminados se caracterizó y comparó con la calidad del aceite de semillas de sitios no contaminados (González-Chávez *et al.*, 2015), registrando que el aceite de las semillas de plantas creciendo en residuos mineros, así como la torta resultante (residuos de semillas de las que se extrajo el aceite), tuvo baja concentración de EPT. En ambos casos la concentración fue similar a la del aceite y torta producidos por las semillas de las plantas de sitios no contaminados. El aceite que se obtuvo del sitio contaminado presentó mayor cantidad de ácido linoléico, un aceite deseable que incrementa la calidad para su uso como biocombustible. Lo anterior es muy importante, ya que para que se pueda utilizar un suelo contaminado con EPT para la producción de biocombustibles es necesario garantizar también la calidad del producto final, como el aceite, adicionalmente, la torta representa un bioproducto secundario que también puede tener uso como mejorador de suelo.

Brasica napus: Es una especie de la familia Brassicaceae, cuyas semillas producen aceite. Liu *et al.* (2010) obtuvieron variedades que produjeron hasta 50% de aceite. Asimismo, por su contenido de lignocelulosa, toda la planta puede usarse para la producción de bioetanol, tal como reportaron Dhiman *et al.* (2016). *B. napus* tolera altas concentraciones de EPT. Belouchran *et al.* (2016) establecieron un experimento con tres meses de duración en un suelo contaminado artificialmente (500 mg kg⁻¹ de Zn con una solución de ZnSO₄·7H₂O). Dichos autores

observaron que *B. napus* desarrolló mayor biomasa en los tratamientos con Zn en comparación con plantas del tratamiento sin Zn. En otra investigación, Dhiman *et al.* (2016) evaluaron la producción de aceite en semillas de *B. napus* al crecer en suelos artificialmente contaminados con As, Pb, Cd, Cu, Ni y Zn. En el estudio se obtuvo bioetanol a razón de 7.6 g L⁻¹ en plantas expuestas a EPT, eficiencia que fue similar a la obtenida en plantas no expuestas a dichos contaminantes.

***Helianthus annuus*:** Pertenece a la familia Asteraceae, se utiliza para la producción de biodiesel y sus semillas contienen alrededor de 42% de aceite (Laviola *et al.*, 2012). Solhi *et al.* (2005) evaluaron la producción de biomasa y capacidad de extracción de Pb y Zn de *H. annuus* en un suelo contaminado con estos elementos (29 mg kg⁻¹ y 182 mg kg⁻¹ de Pb y Zn extractables con DTPA, respectivamente). Las plantas acumularon Pb y Zn en una relación lineal con la concentración extractable con DTPA. No obstante, no se inhibió la producción de biomasa bajo las concentraciones de Pb y Zn encontradas. Adesodun *et al.* (2010) adicionaron a un suelo 400 mg kg⁻¹ de Pb y Zn usando Pb (NO₃)₂ y Zn (NO₃)₂; y observaron factores de translocación >1 para Pb y >2 para Zn en *H. annuus*. La mayor acumulación en hojas de las plantas fue de 320 kg⁻¹ de Zn de 254 kg⁻¹ de Pb. Los autores concluyen que *H. annuus* es una planta candidata para remediar suelos contaminados, dado su potencial de extracción de Pb y Zn. Sin embargo, este estudio podría complementarse si las plantas logran producir semillas con el contenido de aceite suficiente para producir biodiesel.

***Jatropha curcas*:** Es una planta de la familia Euphorbiaceae, nativa de México y América central. Sus semillas contienen entre 27% y 40% de aceite, el cual se utiliza para la producción de biodiesel de calidad suficiente para usarse en motores (Achten *et al.*, 2007). Otra propiedad importante, es que es resistente a la sequía (Corro *et al.*, 2012); asimismo, diversos autores han encontrado que puede usarse en la fitorremediación de suelos contaminados con EPT (Pandey *et al.*, 2012). González-Chávez *et al.* (2016) mostraron que una accesión no tóxica de *J. curcas* fue tolerante a crecer en residuo de mina con concentraciones extractables con DTPA de 8,108 0.6 y 6 mg kg⁻¹ de Cu, Zn, Cd y Pb. Después de 105 días del trasplante, las plantas se desarrollaron sin síntomas de toxicidad y presentaron bajos niveles de acumulación de estos contaminantes en la parte aérea. Los factores de translocación fueron menores a uno, lo que indicó que no hubo acumulación significativa en la parte aérea de las plantas. Chang *et al.* (2014) evaluaron la capacidad de *J. curcas* para desarrollarse durante dos años en un suelo contaminado con Cd, Cr, Ni y Zn en Taiwán. Tan solo seis meses después del trasplante, las plantas aumentaron 35.1%, 39.7% y 31.8% su biomasa radical, así como de tallos y hojas. A los dos años después del trasplante, las plantas acumularon EPT por debajo de la concentración umbral para considerarlas hiperacumuladoras. No obstante, en las investigaciones realizadas no se determinó la concentración de EPT en semillas.

Árboles: son especies recientemente estudiadas para la producción de bioetanol, que se produce a partir

de la celulosa que generan. Estas especies son de gran interés, dado que desarrollan una biomasa masiva que se puede utilizar para la generación de combustibles. Cerca de 50% de la composición de la madera es celulosa, y por esta razón, esta materia se considera como la principal fuente para producir bioetanol en árboles (Jiménez *et al.*, 2004). Otra ventaja del uso de árboles es que participan en la captura de carbono atmosférico. Algunas especies que han sido caracterizadas para la producción de bioetanol son *Pinus pinnata*, *P. radiata* (Jiménez *et al.*, 2004), *Populus* spp. (Hart *et al.*, 2015). Recientemente se han generado especies transgénicas de árboles para incrementar en su biomasa el contenido de celulosa y disminuir el de lignina. A su vez, se busca aumentar la eficiencia y generar árboles de rápido crecimiento (Tang y Tang, 2014). Mertens *et al.* (2004) evaluaron las especies *Acer pseudoplatanus*, *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior*, *Populus alba* y *Robinia pseudoacacia* para desarrollarse en sedimentos salobres contaminados con Cd, Cu, Pb y Zn. Dichos autores observaron que la concentración de EPT en las hojas de cuatro de las especies vegetales fueron normales, así que sugirieron que son aptas para la fitoestabilización. No obstante, *P. alba* acumuló concentraciones elevadas de Cd (8.0 mg kg⁻¹) y Zn (465 mg kg⁻¹), por lo que esta especie no sería una especie adecuada para utilizarse como fitoestabilizadora. No obstante, sería necesario evaluar también la concentración de EPT acumulada en tallos de estas plantas. Los datos de acumulación de EPT en los tejidos de plantas para utilizarse en la producción de biocombustibles son importantes, debido a que estos contaminantes afectan

negativamente la calidad del combustible y podrían representar una fuente de contaminación en el ambiente.

Manejo agronómico de especies de interés bioenergético en suelos contaminados con EPT

Ya se ha visto que varias especies vegetales de interés bioenergético son útiles para desarrollarse en suelos contaminados con altas concentraciones de EPT. No obstante, se requiere manejo agronómico para aportar los nutrientes necesarios para el desarrollo del producto que se procesará para obtener el biocombustible. Una opción adecuada en sitios contaminados es la adición de enmiendas. Estos materiales pueden funcionar además para inmovilizar EPT y evitar su acumulación en el aceite o en los tejidos que se utilizarán para la producción de biodiesel o bioetanol. Solhi *et al.* (2005) agregaron estiércol compostado (7.5 y 15 g kg⁻¹) para fomentar el crecimiento de *H. annuus* creciendo en un suelo contaminado con Pb y Zn. El estiércol incrementó la biomasa de las plantas y fue significativamente mayor al tratamiento testigo (sin adición de estiércol). Ruiz-Olivares *et al.* (2016) utilizaron enmiendas orgánicas (vermicompost y vermicompost+aserrín) para aportar nutrientes en un suelo contaminado con Pb, altas concentraciones de sales y deficiente en nitrógeno. Las enmiendas favorecieron el establecimiento y crecimiento de las plantas. Marques *et al.* (2013) utilizaron bacterias promotoras de crecimiento para fomentar el desarrollo de *H. annuus* en un suelo contaminado con Cd y Zn inoculadas con *Chrysiobacterium humi*, y fueron comparadas con las no inoculadas, registrando menor acumulación de Zn en tejidos de la parte aérea y de Cd en la raíz. Otro aspecto importante a tomar en cuenta en el manejo agronómico es el clima, dado que las plantas se adaptan a diferentes climas. *B. napus*, *H. annuus* podrían utilizarse en regiones templadas, mientras que *R. communis* para zonas áridas y *J. curcas* en las tropicales.

CONCLUSIONES

Diversas investigaciones muestran que es posible utilizar arbustos y árboles para la producción de biocombustible en suelos degradados con EPT. La generación de dichos biocombustibles representa un área oportunidad no solo para remediar el suelo, sino también para la utilización de aquellos que están degradados y que ofrecen servicios ambientales, tales como captura de carbono atmosférico, incremento de la fertilidad del suelo, prevención de la dispersión de contaminantes y producción de biocombustibles.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo forma parte del proyecto CONACyT PD-CAPN-2013-215241.

LITERATURA CITADA

- Achten W.M.J., Mathijs E., Verchot L., Singh V.P., Aerts R., Muys B. 2007. *Jatropha* biodiesel fueling sustainability. *Biofuels. Bioproducts and Biorefining* 1: 283-291.
- Adesodun J.K., Atayese M.O., Agbaje T., Osadiaye B.A., Mafe O., Soretire A.A. 2010. Phytoremediation potentials of sunflowers (*Tithonia diversifolia* and *Helianthus annuus*) for metals in soils contaminated with zinc and lead nitrates. *Water, Air, & Soil Pollution* 207: 195-201.
- Allan Yu Iwama dECD (European Commission. Directive). 2009. Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing directives 2001/77/EC and 2003/30/EC; 2009. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/AL/L/?uri=CELEX%3A32009L0028:0062>. Fecha de consulta: 8/05/2013.
- Babita M., Maheswari M., Rao L.M., Shanker A.K., Rao D.G. 2010. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. *Environmental and Experimental Botany* 69: 243-249.
- Bauidh K., Singh R.P. 2012. Growth, tolerance efficiency and phytoremediation potential of *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) in salinity and drought affected cadmium contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 85: 13-22.
- Belouchrani A.S., Mameri N., Abdi N., Gribb H., Lounici H., Drouiche N. 2016. Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola (*Brassica napus* L.). *Ecological Engineering* 95: 43-49.
- Chang F.C., Ko C.H., Tsai M., Wang Y., Chung C. 2014. Phytoremediation of heavy metal contaminated soil by *Jatropha curcas*. *Ecotoxicology* 23:1969-1978.
- Corro G., Tellez N., Banuelos F., Mendoza M.E. 2012. Biodiesel from *Jatropha curcas* oil using Zn for esterification step and solar radiation as energy source *Fuel* 97: 72-79.
- de Carvalho C.M., Silveira S., La-Rovere E.L., Iwama A.Y. 2015. Deforested and degraded land available for the expansion of palm oil for biodiesel in the state of Pará in the Brazilian Amazon. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 44: 867-876.
- Dhiman S.S., Selvaraj C., Li J., Singh R., Zhao X., Kim D., Kim J.Y., Kang Y.C., Lee J.K. 2016. Phytoremediation of metal-contaminated soils by the hyperaccumulator canola (*Brassica napus* L.) and the use of its biomass for ethanol production. *Fuel* 183: 107-114.
- Edrisi S.A., Abhilash P.C. 2016. Exploring marginal and degraded lands for biomass and bioenergy production: An Indian scenario. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 54: 1537-1551.
- González-Chávez M.C.A., Ruiz-Olivares A, Carrillo-González R., Ríos-Leal E. 2014. Crude oil and bioproducts of castor bean (*Ricinus communis* L.) plants established naturally on metal mine tailings. *International Journal of Environmental Science and Technology* 12: 2263-2272.
- Harborne J.B., Baxter H. 2001. *Chemical Dictionary of Economic Plants*. John Wiley & Sons. 217 p.
- Hart Q.J., Tittmann P.W., Bandaru V., Jenkins B.M. 2015. Modeling

- poplar growth as a short rotation woody crop for biofuels in the Pacific Northwest. *Biomass and bioenergy* 79: 12-27.
- Huang H., Yu N., Wang L., Gupta D.K., He Z., Wang K., Zhu Z., Yan X., Li T., Yang X. 2011. The phytoremediation potential of bioenergy crop *Ricinus communis* for DDTs and cadmium co-contaminated soil. *Bioresource Technology* 102: 11034-11038.
- Jiménez A.B., Calderón J.F., Hernández J.B., Gutierrez J.R., Bancalari M.E. 2004. Relación entre edad del árbol y su composición química en *Pinus radiata* (D.Don) crecido en Chile y su importancia para la producción de bioetanol. *Kurú: Revista Forestal* 1.
- Laviola B.G., Alves A.A., Rocha R. B., Drumond M.A. 2012. Chapter 5: The importance of *Jatropha* for Brazil. In: Carels N., Sujatha .M, Bahadur B (Eds). 2012. *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop: Volume 1: Farming, Economics and Biofuel. Springer Science & Business Media. 600 pp.
- Liu L.A., Wei D.Q., Li Y. (Eds). 2010. *Interdisciplinary Research and Applications in Bioinformatics, Computational Biology, and Environmental Sciences*. IGI Global. p 87.
- Marques A.P.G.C., Moreira H., Franco A.R., Rangel A.O.S.S., Castro P.M.L. 2013. Inoculating *Helianthus annuus* (sunflower) grown in zinc and cadmium contaminated soils with plant growth promoting bacteria – Effects on phytoremediation strategies. *Chemosphere* 92: 74-83.
- Mertens J., Vervaeke P., Schrijver A.D., Luysaert S. 2004. Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation *Science of the Total Environment* 326: 209-215.
- Niu Z., Sun L., Sun T., Li Y., Wang H. 2007. Evaluation of phytoextracting cadmium and lead by sunflower, ricinus, alfalfa and mustard in hydroponic culture. *Journal of Environmental Sciences* 19: 961-967.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés). 2016. Degradación de suelos. Portal de suelos de la FAO. Documento web, disponible en: <http://www.fao.org/soils-portal/degradacion-del-suelo/es/>. Fecha de acceso: 07/10/2016.
- Pandey V.C., Singh K., Singh J.S., Kumar A., Singh B., Singh R.P. 2012. *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16: 2870-2883.
- Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Soto-Hernández R.M. 2013. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management* 114: 316-323.
- Solhi M., Shareatmadari H., Hajabbasi M. 2005. Lead and zinc extraction potential of two common crop plants, *Helianthus annuus* and *Brassica napus*. *Water, Air, and Soil Pollution* 167: 59-71.
- Tang W., Tang A.Y. 2014. Transgenic woody plants for biofuel. *Journal of Forestry Research* 25: 225-236.

INTRODUCCIÓN

Los elementos potencialmente tóxicos (EPT) se encuentran de forma natural en el suelo. No obstante, diversas actividades como la minería o la industria pueden contaminar este recurso debido a la alta generación de residuos. Por tanto, la concentración de EPT en el suelo se incrementa a niveles tóxicos para seres vivos. Por ello, es importante tomar acciones para prevenir dicha contaminación o remediar un suelo una vez contaminado, todo ello para evitar el daño al ecosistema y la salud pública. Regular ésto es la función de toda legislación ambiental. La regulación ambiental se basa en el derecho de toda persona de desarrollarse en un medio ambiente sano. Esta idea se encuentra en el artículo 11 del Protocolo de San Salvador, el cual surge basado en la declaración universal de los derechos humanos. Asimismo, en el artículo 4° párrafo cinco, la Constitución Mexicana menciona: **“Toda persona tiene derecho a un medio ambiente sano para su desarrollo y bienestar. El Estado garantizará el respeto a este derecho. El daño y deterioro ambiental generará responsabilidad para quien lo provoque en términos de lo dispuesto por la ley”**. Después de la constitución existen leyes complementarias, seguidas de reglamentos, los cuales vigilan el cumplimiento de los objetivos de las leyes. Finalmente, las normas oficiales mexicanas (NOM) y las normas mexicanas (NMX) son especificaciones técnicas que sirven para evaluar parámetros en los que se basa la evaluación de un sitio (Ruiz-Olivares, 2016) y determinar su grado de contaminación. En México, la ley que se encarga de los aspectos ambientales es la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA); y como ley complementaria, en el caso de que haya residuos implicados, se encuentra la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGP-GIR). Asimismo, la ley que regula el cumplimiento los sujetos responsables de la contaminación es la Ley Federal de Responsabilidad Ambiental (LFRA; Figura 1). No obstante, otras leyes podrían aplicarse a un sitio contaminado, dependiendo específicamente de cada caso. Por ejemplo, si hay cuerpos de agua en riesgo, áreas naturales protegidas en las cercanías, etcétera. En cuanto a las NOMs, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 aplica directamente a todos los suelos contaminados por EPT. En ésta se presentan los valores máximos permisibles que marcan un umbral sobre el cual es recomendable tomar acciones para remediar un suelo contaminado, y norma aspectos metodológicos precisos para evaluar el grado de contaminación de un suelo, además de los objetivos de la remediación de un sitio.

Un problema medioambiental relacionado con EPT, debe vincularse con cada nivel jerárquico de la Legislación Ambiental Mexicana y debe considerar cada ley y reglamento pertinente; según el caso específico de un sitio. De esta forma, un proyecto de remediación tendrá un sustento legal adecuado.



Figura 1. Organización jerárquica de la legislación ambiental mexicana.

Criterios para la remediación de un suelo contaminado con EPT

En general, la concentración total de EPT en el suelo es la que se considera para plantear una alternativa de remediación. Sin embargo, varios investigadores han mencionado que la concentración total es un pobre indicador de toxicidad de EPT, debido a que sus diferentes formas químicas en la fase sólida varían considerablemente en términos de biodisponibilidad (Allen, 2001; Nolan *et al.*, 2003; Temminghoff *et al.*, 1998). La concentración total de EPT en suelo se refiere incluso a los elementos que son componentes estructurales de los minerales (Lim y Jackson, 1982), por lo que hay que aclarar que la concentración total no es el mejor indicador para reflejar el potencial de riesgo ambiental. Un nuevo enfoque considera evaluar la contaminación a través de la concentración disponible para los organismos (Adriano *et al.*, 2004). La concentración disponible para seres vivos (biodisponibilidad) es una fracción de la concentración total, la cual interactúa directamente con un ser vivo. Asimismo, esta depende de las propiedades específicas del suelo. Por ejemplo, 1 g de Pb presenta diferente riesgo en un suelo arenoso que en uno arcilloso. Si la mayor proporción del EPT está en forma no biodisponible o en una soluble, tendrá diferentes características en su movilidad, lixiviación y absorción en los organismos vivos. Más aun, el tipo de contaminante es muy importante para determinar su riesgo. Por ejemplo, el Hg y el As son más tóxicos que el Zn o el Cu. No hay consenso de cómo evaluar

la biodisponibilidad de un elemento. Además, porque esto depende del organismo sobre el cual se esté evaluando la toxicidad. En el caso de los seres humanos se maneja la bioaccesibilidad, que hace referencia a la concentración de un contaminante en un material que será absorbido por el organismo humano. Se han desarrollado métodos que tratan de estimar el grado de absorción de contaminantes que tendrían los diferentes órganos del cuerpo humano, tales como pulmones (Julien *et al.*, 2011), estómago e intestinos (Juhasz *et al.*, 2010) o saliva (Deshommes *et al.*, 2012) en contacto con materiales contaminados. En el caso de las plantas, un tipo de extracción común es la que se hace con agentes quelatantes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el dietil-

entriaminopentaa-cético (DTPA). Este último fue desarrollado para la determinación de Zn, Fe, Mn y Cu, como microelementos esenciales en el suelo disponibles para ser absorbidos por las plantas (Lindsay y Norvell, 1978). Sin embargo, la extracción con DTPA ha sido aplicada en la extracción de otros EPT fuera del ámbito de la nutrición vegetal

(Baker y Amacher, 1982) para evaluar la contaminación del suelo. Esto se debe a que los EPT extraídos por este método se pueden relacionar con la concentración disponible para la planta. En este sentido, la NOM021-RECNAT-2000 menciona las concentraciones extraídas con DTPA de Pb, Cd y Ni que pueden ser tóxicas para las plantas. Sin embargo, esta norma solo aplica para suelos de uso agrícola y no para residuos peligrosos u otro tipo de materiales, además de que no son criterios que clasifiquen a un suelo como sujeto a remediar. Otra forma química de EPT que puede ser de utilidad para evaluar su toxicidad es la soluble en agua. Además de representar disponibilidad inmediata de EPT para ser absorbido por plantas, representa un riesgo, dada la posible lixiviación de éstos hacia otros sitios o hacia cuerpos de agua.

La NOM-147 utiliza principalmente dos criterios para evaluar el grado de contaminación de un suelo. El primero considera la concentración referencia total (CRT), que se define como la de un elemento, por encima de la cual se considera que existen riesgos para la salud. El segundo es la concentración de referencia soluble (CRS), que se refiere a aquella en una solución extractante, por encima de la cual se considera que existen riesgos potenciales al medio ambiente. Con base en los métodos analíticos de la NOM-147, la CRT es equivalente a la concentración total y la CRS a la soluble en agua (Cuadro 1). En la CRT es necesario diferenciar el uso de suelo para clasificarlo como sujeto a remediar; esto porque es de uso agrícola o residencial. El riesgo de exposición a los

EPT es mayor que en un suelo de uso industrial. Una vez que las concentraciones de un suelo superan las de referencia de uno o más EPT citados en el Cuadro 1, es necesario proceder a la remediación. La NOM-147 menciona que un proyecto de remediación debe alcanzar uno de los siguientes objetivos: 1) Remediar hasta las CRT, 2) Remediar hasta las concentraciones

de fondo. Es decir, la concentración natural del EPT en el sitio. Para esto es necesario obtener muestras en la cercanías del sitio, que no hayan sido expuestas a la contaminación, 3) Remediar hasta las concentraciones específicas totales (CRE, éstas se refieren a una relación entre la CRT y un factor que considera bioaccesibilidad) o 4) Remediar hasta las concentraciones de referencia de la fracción soluble + la concentración soluble de la muestra de fondo (Cuadro 1). Actualmente, para que un proyecto de remediación se considere exitoso es necesario cubrir uno de los cuatro puntos anteriores. Sin embargo, es importante mencionar que, aunque la CRE considera la bioaccesibilidad, la relaciona con la concentración CRT de un sitio y genera un cociente para evaluar el grado de riesgo de un sitio, lo cual es un término poco claro y dificulta la comparación de un suelo evaluado

Cuadro 1. Concentraciones de referencia para la remediación de un suelo contaminado con EPT.

EPT	Concentraciones de referencia totales		Concentraciones de referencia solubles mg L ⁻¹
	Uso agrícola/residencial mg kg ⁻¹	Uso industrial	
As	22	260	0.500
Ba	5,400	67,000	10,000
Be	150	1,900	0.122
Cd	37	450	0.100
Cr (VI)	280	510	--
Hg	23	310	0.020
Ni	1,600	20,000	1.100
Ag	390	5,100	0.500
Pb	400	800	0.500
Se	390	5,100	0.100
Ta	5.2	67	0.200
V	78	1,000	0.160

con la información científica generada. Asimismo, la NOM-147 no considera como EPT a Co, Cu, Fe, Mn y Zn; los cuales, a pesar de ser micronutrientes para seres humanos y plantas, representan un riesgo en concentraciones elevadas, por lo que la contaminación con estos elementos es un problema existente en el país que debe atenderse.

Pertinencia de la fitorremediación en la Legislación Ambiental Mexicana

La necesidad de la remediación surge del estudio, análisis de la caracterización del sitio y el riesgo ambiental que representa. Por ello, debe considerarse el riesgo de exposición de los organismos a los EPT. ***La introducción de plantas a un sitio contaminado implica el establecimiento de una cubierta que, aunque puede no disminuir la concentración total de EPT en un suelo, es capaz de evitar su dispersión y así su riesgo ecológico o ambiental. Al estabilizar la fracción disponible de EPT de un suelo, las plantas representan una forma importante para disminuirla.*** Esto puede vincularse con la evaluación de la CRS mencionada en la NOM-147. Además, se ha demostrado la capacidad de las plantas para retener partículas que contienen EPT en las partes externas de sus tejidos, en lo que se ha llamado fito-barreras (Sánchez-López *et al.*, 2015), por lo que las plantas representan un mecanismo eficaz de disminución de la disponibilidad, dispersión y riesgo de los EPT y, al mismo tiempo, participación en mejorar la calidad del suelo contaminado. El paradigma de considerar únicamente las concentraciones totales de EPT en un sitio, como criterio de diagnóstico del grado de contaminación y el éxito de un proyecto de remedia-

ción, está cambiando en favor de una alternativa más integral, la cual diferencia la biodisponibilidad de estos contaminantes. Para una amplia aceptación regulatoria y pública, las alternativas de remediación dependen de la habilidad de reconocer esta diferencia física, química y biológica. Los cambios en las metas y guías favorecen fuertemente el desarrollo de técnicas de remediación para convertir la fracción biodisponible en el suelo en formas no disponibles, generalmente con el uso de enmiendas orgánicas e inorgánicas, que han demostrado cambiar la disponibilidad de los EPT en el suelo (Ver artículo: Fitorremediación asistida con enmiendas y fitoestabilización de elementos potencialmente tóxicos). Asimismo, debe considerarse el aspecto social y económico en un proceso de remediación, así como la valoración de los residuos o suelo contaminado para su aprovechamiento como insumos en las actividades productivas, protección de la población humana, ambiente y recursos naturales.

Participación de la comunidad científica y población en la resolución de problemas de contaminación

Dado que se requiere de la participación interdisciplinaria para la resolución de los problemas medioambientales, la Legislación Ambiental Mexicana permite la participación de diversos sectores en el diagnóstico y resolución de dichos problemas. En primera instancia, la LGPGIR posee un capítulo que especifica la participación social y tiene como objetivo promover la participación de todos los sectores de la sociedad en la prevención de la generación, la valorización y la gestión integral de residuos. Ésto incluye al sector privado, social e instituciones

académicas, grupos y organizaciones sociales, y demás interesados (LGPGIR, Art. 35, sección VII). En su Artículo 36, la LGPGIR también establece que el gobierno tanto federal, estatal como municipal, integrarán órganos de consulta en los que participen instituciones públicas, académicas, organizaciones sociales y empresas. Éstas tendrán funciones de asesoría, evaluación y seguimiento en materia de la política de prevención y gestión integral de los residuos. Asimismo, podrán emitir opiniones y observaciones que consideren pertinentes. Ésto es importante porque permite a los centros de investigación contar con un respaldo legal en su participación en el diagnóstico de problemáticas ambientales. Al respecto, en su Artículo 49, la Ley de Ciencia y Tecnología menciona que los centros públicos de investigación colaborarán con las autoridades en las actividades de promoción de la metrología, en la elaboración de NOMs o MMX, y en la evaluación de la conformidad con las mismas, por lo que la comunidad científica puede participar en la discusión de las normas, siendo una oportunidad para complementar el marco legal mexicano con los avances científicos en relación con la contaminación de suelo por EPT. La LFRA (Art. 28, inciso I) reconoce el derecho para demandar la responsabilidad ambiental de la reparación del daño a las personas físicas habitantes de la comunidad adyacente al daño ocasionado al ambiente, por lo que las demandas ciudadanas están respaldadas con este artículo.

CONCLUSIONES

Es importante el conocimiento de la Legislación Ambiental Mexicana en la evaluación de un problema de contaminación del

suelo por EPT. Esto debe integrar las leyes, reglamentos y normas ambientales mencionados en este artículo para así generar un respaldo legal completo. Es pertinente la integración de las tecnologías de la fitorremediación en el marco legal con la debida evaluación de sus efectos en los EPT del suelo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto CONACYT PD-CAPN-2013-215241

LITERATURA CITADA

- Adriano D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. (2° ed). Springer Verlag. USA. 866 p.
- Adriano D.C., Wenzel W.W., Vangronsveld J., Bolan N.S. 2004. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 122: 121-142.
- Allen H.E. 2001. Terrestrial ecosystem: an overview, In: Allen, H.E. (Ed), Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: importance of partitioning for availability to invertebrates, microbes, and plants. SETAC Press, Pensacola, Florida, pp 1-6.
- Baker D.E., Amacher M.C. 1982. Nickel, copper, zinc, and cadmium. In: Methods of Soil Analysis. 2nd edition. A. L. Page (ed.). American Society of Agronomy, Inc. Soil Science Society of America, Inc. pp: 323-336.
- Deshommes E., Tardif R., Edwards M., Sauvé S., Prévost M. 2012. Experimental determination of the oral bioavailability and bioaccessibility of lead particles. *Chemistry Central Journal* 6: 138.
- Juhasz A.L., Weber J., Smith E. 2010. Impact of soil particle size and bioaccessibility on children and adult lead exposure in peri-urban contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 186: 1870-1879.
- Julien C., Esperanza P., Brunoab M., Allemanab L.Y. 2011. Development of an *in vitro* method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. *Journal of Environmental Monitoring* 13: 621-630.
- Ley de Ciencia y Tecnología. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5/06/2002.
- Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 8/10/2003.
- Ley Federal de Responsabilidad Ambiental. Publicada en el diario oficial de la Federación el 7/06/2013.
- Lindsay W.L., Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*. 42: 421-428.
- Loredo-Portales R., Cruz-Jiménez G., Castillo-Michel H., Rocha-Amador D.O., Vogel-Mikuš K., Kump P., de la rosa Rosa G. Understanding Copper speciation and mobilization in soils and mine tailings from "Mineral La Aurora" in central Mexico: contributions from Synchrotron techniques. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 6: 447-456.
- NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Nolan A.L., McLaughlin M.J., Mason S.D. 2003. Chemical speciation of Zn, Cd, Cu, and Pb in pore waters of agricultural and contaminated soils using Donnan dialysis. *Environmental Science Technology* 37: 90-98.
- Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Soto Hernández R.M. 2013. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management* 114: 316-323.
- Ruiz-Olivares A. 2016. Esquema de fitorremediación de un sitio contaminado con residuos de baterías de automóvil. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. México.
- Sánchez-López A.S., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Rosas-Saito G.H., Vangronsveld J. 2015. Phytobarrriers: Plants capture particles containing potentially toxic elements originating from mine tailings in semiarid regions. *Environmental Pollution* 205: 33-44.
- Temminghoff E.J.M, Van der Zee S.E.A.T.M., Da Haan F.A.M. 1998. Effects of dissolved organic matter on the mobility of copper in a contaminated sandy soil. *Eurasian Journal Soil Science* 49: 617-628.



APLICACIONES Y DESAFÍOS DE LA NANOTECNOLOGÍA EN EL CONTROL Y MITIGACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN

APPLICATIONS AND CHALLENGES OF NANOTECHNOLOGY ON CONTROL AND MITIGATION OF CONTAMINATION

Martínez-Gómez, M.A.¹; Carrillo-González, R.^{1*}; González-Chávez, M.C.A.¹

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

*Autor de correspondencia: crogelio@colpos.mx

RESUMEN

La nanociencia es una disciplina que presenta más avances en el desarrollo de tecnología en los últimos años. Su alcance llega a sectores tan diversos que incluye desde la medicina hasta la industria, y recientemente ha incursionado en el control y la mitigación de la contaminación ambiental. En este estudio se describen los conceptos básicos de nanociencia y nanotecnología. Asimismo, se citan algunos ejemplos sobre el uso y aplicación de las nanopartículas sintéticas, como alternativa tecnológica para el tratamiento de suelo y agua contaminados. Además, se discuten las implicaciones toxicológicas de su uso a gran escala y destino probable de los nanomateriales en el ambiente, ya que se desconocen los mecanismos de su interacción con factores ambientales. Es importante señalar los escasos estudios que hay sobre la aplicación de esta tecnología en condiciones de campo y la necesidad de evaluar el comportamiento de los nanomateriales a través del tiempo.

Palabras clave: nano partículas, contaminantes del ambiente, nanociencia.

ABSTRACT

Nanoscience is a discipline that presents accelerated advances in the development of technology in recent years. Its scope reaches diverse sectors that include from medicine to industry, and more recently the control and mitigation of environmental contamination. In this review the basic concepts of nanoscience and nanotechnology are described. Examples regarding the use and application of synthetic nanoparticles, as a technological strategy for the treatment of soil and water contaminated are also cited. The toxicological implications of large scale nanomaterials use and their probable endpoint in the environment are discussed, because there is limited knowledge of environmental interaction mechanisms. It is important to point out the scarce studies on this technology application under field conditions and need for evaluating the behavior of nanomaterials throughout time.

Keywords: nanoparticles, environmental contaminants, nanoscience.



INTRODUCCIÓN

Las partículas que constituyen la materia se pueden clasificar por su tamaño. Las partículas gruesas cubren un intervalo entre 10000 y 2500 nm y, las finas entre 2500 y 100 nm. Hasta los años setenta se les denominó partículas ultrafinas (UFP) a aquellas entre 1 y 100 nm. Posteriormente se les designó el prefijo *nano* (del griego *nannos* "enano") y expresa la milmillonésima parte de la unidad. Por tanto, un nanomaterial se define como aquel que posee ciertas características estructurales, de las cuales al menos una de sus dimensiones está en el intervalo de 1-100 nanómetros ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$). Así, la nanotecnología es el área de investigación que estudia, diseña y fabrica materiales a nano escala con diversas aplicaciones (Takeuchi, 2011). La nanotecnología es un área de amplio desarrollo en los últimos años, debido a las aplicaciones y alcances, además, las propiedades únicas de los nanomateriales (nanopartículas, nanocristales, coloides de metal, nanobarras, dendrímeros y nanocápsulas) reciben particular atención por su posible uso en fármacos, bioingeniería, remediación de agua (Xu *et al.*, 2012) y suelo contaminado (Shiple y Engates, 2011). La presencia de nanopartículas en la naturaleza no es reciente, ya que en forma natural existen en gran diversidad, y se distinguen las producidas por actividad del hombre y las de origen natural. Las primeras, surgen bajo síntesis o de forma accidental, es decir, como producto de actividades industriales, quema de combustibles o actividades cotidianas y productos secundarios de la actividad minera y metalúrgica. Mientras que las nanopartículas naturales resultan de fenómenos ambientales, como por ejemplo, de las emisiones de gases, aerosoles y partículas de los volcanes (Buzea *et al.*, 2007), desgaste o interperismo de rocas como alofano, ferrihidrita, goetita, magnetita y antracita (Ribeiro *et al.*, 2013). Las nanopartículas poseen propiedades específicas en términos de tamaño, características y comportamiento. Lo anterior, como consecuencia de la relación superficie/volumen y el aumento de adsorción de átomos. Los nanomateriales poseen propiedades físicas, químicas, electrónicas y ópticas que no están presentes en los materiales a granel (bulk materials) (Buzea *et al.*, 2007). Esto ocurre porque a esta escala, las características y el comportamiento del material lo determinan sus propiedades cuánticas; por ejemplo, sustancias opacas se vuelven transparentes (cobre), materiales estables se tornan combustibles (aluminio), compuestos inertes se convierten en catalizadores (platino) y los aislantes se transforman en conductores (silicio),

(Dinesh *et al.*, 2012). Las nanoestructuras se constituyen de distintos elementos y compuestos. Por ejemplo, Hrapovic *et al.* (2006) sintetizaron nanocompositos a partir de nanopartículas metálicas (oro, platino y cobre) de interés electroquímico y nanotubos de carbono de pared múltiple, con el objetivo de detectar trinitotolueno y otros compuestos nitro aromáticos. Los dendrímeros cuentan con varios extremos libres en los que se pueden acoplar y transportar moléculas de distinta naturaleza, desde agentes terapéuticos hasta moléculas fluorescentes para detección de compuestos orgánicos, lo cual modifica su forma y tamaño. Es frecuente que se considere como criterio de clasificación de las nanoestructuras, su origen, composición química y construcción, dimensiones externas, entre otras propiedades, sin embargo, algunos autores complementan dicha categorización con base en las características de tamaño o morfología de las nanoestructuras.

Métodos de síntesis de nanopartículas

Existen dos tipos de métodos de síntesis de materiales y dispositivos: el de construcción bajo control de "abajo hacia arriba" o *bottom up* y el de miniaturización de "arriba hacia abajo" o *top down* (Zhao *et al.*, 2011a). En el primero, el objetivo es sintetizar nanopartículas mediante el depósito y crecimiento de los cristales a partir de soluciones en fase líquida o vapor, como son los métodos de sol-gel (Dercz *et al.*, 2007) y el de aerosol pirólisis (Milošević *et al.*, 2009), o mediante procesos de precipitación química. Con el método *top down*, las nanopartículas se obtienen mediante procesos de miniaturización, aplicando diferentes técnicas, como molienda mecánica o descomposición térmica (Zhao *et al.*, 2011a). Diversos estudios hacen énfasis en la dependencia entre el método de síntesis de nanopartículas y el diseño de aplicación. Esto se debe a que la interacción y estabilidad de los materiales que conforman la nanopartícula pueden ser determinantes en el efecto benéfico o perjudicial del tratamiento con nanopartículas (Gómez-Villalba, 2011).

Uso de nanomateriales en la remediación de suelo

En los últimos años, la aplicación de tecnología novedosa al cuidado del ambiente se orienta a satisfacer necesidades que incluyen: atenuación de contaminantes (Farkas *et al.*, 2012), sensores de moléculas orgánicas (Pan y Xing, 2012) y detección de metales pesados (Zhou *et al.*, 2014), entre otros. Asimismo, la nanotecnología puede proporcionar estrategias para el ahorro en el consumo de fertilizantes en el suelo, reducción de pérdidas por descomposición física y química de estos

insumos, atenuación del efecto de contaminantes ambientales en agua y suelo, e incluso alternativas para incrementar la captura de carbono en el suelo. Numerosas publicaciones proponen sistemas nanotecnológicos para el control de contaminantes y moléculas recalcitrantes en matrices acuosas y suelo. Es el caso de Farkas *et al.* (2012), quienes al adicionar nanopartículas de oro y plata en la superficie del suelo, estabilizaron al fenantreno, hidrocarburo aromático policíclico de carácter carcinogénico, lo cual sugiere que la unión del fenantreno a las nanopartículas metálicas es resultado de un fenómeno de sorción (Farkas *et al.*, 2012). Este mecanismo se origina gracias a las propiedades del núcleo y la concentración de reactivos en las nanopartículas, evidenciando la influencia de las nanopartículas en el transporte, biodisponibilidad y propiedades tóxicas de contaminantes en el suelo. Sun *et al.* (2012) proponen que los nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT, del inglés Single-Walled Carbon Nanotubes) poseen potencial para reducir la movilidad y biodisponibilidad de herbicidas en suelo de uso agrícola. Lo anterior, debido a la capacidad de los SWCNT como adsorbentes de compuestos orgánicos, en particular de diuron y norfluzaron, herbicidas contaminantes de suelos agrícolas. Con base en los resultados de correlación positiva del área superficial de los SWCNT y la concentración de hidrógeno/carbono/oxígeno presentes en su estructura, los autores concluyeron que los SWCNT son capaces de adsorber diuron y norflurazon por influencia de grupos funcionales carboxílicos presentes en la superficie de los SWCNT. A pesar de los resultados prometedores de este estudio es necesario evaluar el riesgo y los posibles efectos adversos de la aplicación de gran cantidad de SWCNT en suelos con estos contaminantes. Una alternativa para el control de la contaminación de suelo con plomo, procedente de áreas urbanas, es la aplicación de nanopartículas de apatita estable $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$. Después de 30 días de aplicación, la concentración de lixiviados de Pb (II) en suelo con tratamiento de nanopartículas de apatita disminuyó con respecto a la concentración en suelo sin tratar. Lo anterior se demostró mediante la disminución del índice TCLP (del inglés Toxicity Characteristic Leaching Procedure) en suelos contaminados con Pb (II) tratados con nanopartículas de apatita (Liu y Zhao, 2013). Las pruebas de laboratorio mostraron que las nanopartículas podrían disminuir efectivamente hasta 66% de la fracción TCLP en un suelo contaminado con Pb.

Una nueva clase de nanopartículas de óxido binario fierro-manganeso estables preparadas con almidón soluble en agua y carboximetilcelulosa (CMC) se presentan como alternativa para inmovilizar arsénico. Un experimento al respecto se basó en la capacidad de sorción e inmovilización de arsenito (As^{3+}) en el suelo (An y Zhao, 2012). Aunque la capacidad de adsorción de As fue similar, tanto con las nanopartículas de Fe-Mn desnudas o estabilizadas, estas últimas se agregaron en el suelo y se indujo la inmovilización *in situ* de As^{3+} . La presencia de nanopartículas Fe-Mn estabilizadas en columnas de suelo con As redujo entre 91% y 96% de lixiviados de As y 78% el índice TCLP de As^{3+} presente en el lecho del suelo, sin embargo, las escasas investigaciones sobre el empleo de la nanotecnología en el suelo y la complejidad de este sistema, limitan la comprensión integral del comportamiento de las nanoestructuras. En consecuencia, se dificulta la evaluación de riesgos ambientales (desequilibrio de comunidades microbianas sensibles, alteraciones

en los ciclos de nutrientes, magnificación trófica) y toxicológicos que se deriven de la introducción de esta tecnología en el suelo.

Uso de nanomateriales como sorbentes en agua

El dióxido de titanio (TiO_2) es un semiconductor de aplicación común que recientemente toma importancia con notables resultados en aspectos ambientales, tales como fotocatalizador en reacciones de reducción de contaminantes inorgánicos, en la fotodegradación de diversos contaminantes orgánicos e inactivación de microorganismos. Los nanotubos de Titanato (TNTs, del inglés Titanate Nanotubes) se proponen como alternativa para el tratamiento de agua contaminada con elementos potencialmente tóxicos (EPT). Los TNTs generalmente se sintetizan mediante reacción hidrotérmica de TiO_2 y NaOH . Las ventajas que ofrece este nanomaterial se basan en sus propiedades fisicoquímicas especiales, como microestructura uniforme, diámetro pequeño del tubo y amplia superficie específica, entre otros. Además, TNTs son abundantes en grupos hidroxilo (-OH) que se localizan en las interlaminaciones y la superficie, lo cual se relaciona con su intensa actividad de intercambio iónico: entre H^+/Na^+ y los iones de EPT, y con su capacidad adsorbente de cationes en medio acuoso. En consecuencia, los TNTs se aplican para eliminar diversos contaminantes de las aguas residuales, tales como cationes de EPT (p.e., Pb^{2+} y Cd^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} y Ni^{2+}), aniones (p.e., As^{3+} y As^{5+}), estabilizar iones radiactivos (p.e., Sr^{2+} , Ba^{2+} y Cs^+), e incluso, colorantes aminoaromáticos. Liu *et al.* (2013) demostraron que la adsorción de cuatro EPT en la superficie catalítica de los TNTs sigue la secuencia:



$Pb^{2+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} >> Cr^{3+}$. Sin embargo, la presencia de iones inorgánicos (p.e., Fe^{3+} , Al^{3+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ y K^+) en la solución acuosa tiene efectos inhibitorios en la absorción, debido a que compiten por los sitios de adsorción con iones de EPT. Lo anterior plantea una limitante en la aplicación de estas nanoestructuras, debido a que, con frecuencia, el agua residual contiene estos iones. Además, Shih *et al.* (2012) reportaron que se requiere alta concentración y afinidad iónica de las nanopartículas de titanio para conseguir su agregación. Estos factores deben tenerse en cuenta para interpretar el comportamiento de las nanopartículas, así como su eliminación del medio acuático. En un trabajo publicado por van Wieren *et al.* (2012), se emplearon nanopartículas de óxido de titanio (TiO_2 , anatasa) para eliminar antibióticos compuestos por fluoroquinolona, en particular ofloxacin, de agua residual de origen nosocomial y veterinario. El análisis espec-

trométrico de la concentración de ofloxacin en solución después de eliminar las nanopartículas sólidas mostró la presencia de grupos dimetilados y carboxilados ionizados de fluoroquinolona. Estos compuestos son producto de la degradación de ofloxacin en la superficie de las nanopartículas de TiO_2 , sin embargo, los estudios sobre adsorción de fluoroquinolonas en óxido de titanio mostraron la influencia de la materia orgánica (ácido húmico) presente en el medio acuoso y del soporte químico del fármaco (Peng *et al.*, 2012), lo cual podría alterar el transporte y el destino de la norfloxacin en el ambiente.

Xu *et al.* (2012) propusieron el uso de nanopartículas magnéticas como una alternativa para la eliminación de contaminantes en aguas residuales. Estas poseen características notables con respecto al resto de nanoestructuras, entre las que se pueden mencionar al tamaño, mayor área superficial con respecto a su volumen total, propiedades magnéticas, baja toxicidad, estabilidad química y compatibilidad con biomoléculas (McHenry y Laughlin, 2000) (Cuadro 1). En la actualidad se desarrollan filtros de escala nanométrica que poseen alta selectividad química y velocidad de flujo controlable, dirigidos a la separación de reactivos químicos, fármacos de liberación prolongada y tratamiento de agua residual. En este ámbito es fundamental el estudio de la interacción de las moléculas con la superficie de poro y la afinidad de los materiales del filtro. Además, en el caso de la fabricación de nanofiltros, se debe tomar en cuenta el intervalo de porosidad (1-10 nm), afinidad de las membranas de tipo polimérico, la arquitectura macromolecular de los mesoporos y la cavidad de los nanotubos de carbono (CNT, del inglés carbon nanotubes) (Wang *et al.* 2013a). La funcionalidad de los filtros de CNT se basa en el bombeo de iones a través de la membrana mediante la aplicación de presión o de un campo eléctrico.

Cuadro 1. Aplicaciones nanotecnológicas en relación a EPT y moléculas orgánicas.

Nanoestructura	Contaminante	Mecanismo	Aplicación	Referencia
Nanotubos de titanato/Nanopartículas de dióxido de titanio	Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} y Cr^{3+} . Colorantes	Adsorción competitiva entre iones metálicos y H^+/Na^+	Eliminación de EPT en aguas residuales	Liu <i>et al.</i> , 2013/ Hu y Shipley, 2012
Nanopartículas de óxido de titanio	Ofloxacin /Norfloxacin (fluoroquinolona)	Sorción y degradación	Control de antibióticos de uso veterinario y humano en agua residual	van Wieren <i>et al.</i> , 2012/Peng <i>et al.</i> , 2012
Nanopartículas de dióxido de titanio	Se^{4+}	Sorción de Se y estabilización de TiO_2	Estudio de modelos de sorción y estabilidad de Se en la superficie de nanopartículas de TiO_2	Benedicto <i>et al.</i> , 2013
Nanopartículas de óxido de titanio	Agregación de nanopartículas	Sorción	Estudio de cinética de agregación para control de contaminantes en medio acuático	Shih <i>et al.</i> , 2012
Nanotubos de carbono-grafto	Cu^{2+} y sulfametoxazol	Coadsorción	Modelo de sorbentes para investigar la coadsorción de Cu y sulfametoxazol	Wu <i>et al.</i> , 2012
Nanopartículas de hierro	Cr (VI)	Reducción química	Remoción de Cr (IV) mediante reducción química en suelo contaminado	Singh <i>et al.</i> , 2011
Nanopartículas poliméricas con soporte de óxido de hierro (III)	As (V)	Sorción	Alta capacidad de retención de As (V) sobre la superficie de las nanopartículas	Cumbal y SenGupta, 2005

No obstante, en la aplicación y las expectativas a gran escala de la nanotecnología aún existen inconvenientes debido a los escasos estudios sobre los mecanismos de formación, estabilización, liberación, transporte y depósito de nanopartículas en el ambiente acuático y terrestre (Farkas *et al.*, 2012; Dinesh *et al.*, 2012), así como aspectos toxicológicos.

Uso de biosensores en escala nanométrica

Los biosensores son descritos como dispositivos analíticos de detección química que comprende una entidad de reconocimiento de origen biológico acoplado a un transductor. Este sistema permite el desarrollo cuantitativo de un parámetro bioquímico complejo, es decir, transduce el evento de reconocimiento (Fraser, 1994). Estos dispositivos son útiles en la detección de moléculas orgánicas e inorgánicas, en el control de especies biológicas, monitoreo de contaminantes orgánicos, EPT, detección de patógenos en alimentos (Carrillo y González, 2011), e inclusive, en la identificación del riesgo potencial de bioterrorismo, entre otras aplicaciones. Algunos ejemplos exitosos se presentan en el Cuadro 2, sin embargo, los principales desafíos que enfrentan muchos biosensores incluyen su baja sensibilidad, así como su especificidad y sus complejos métodos de limpieza. El desarrollo de la nanotecnología presenta algunas soluciones prometedoras para aliviar estos problemas (Zhang, 2011). Esto se puede aplicar en biotecnología, medicina, industria alimenticia, agricultura, ingeniería de materiales, ciencias básicas, entre otras áreas de conocimiento y aplicación. Recientemente se desarrollan biosensores basados en nanotecnología que comprenden nanopartículas con núcleo

magnético, cubiertos por sílice, una o más capas inmóviles de diferentes metales en la superficie externa y, finalmente, un revestimiento de moléculas orgánicas o inorgánicas de naturaleza sintética capaz de unirse a biomoléculas. Estas pueden inmovilizarse físicamente a través de interacciones hidrófobas, iónicas, o de Van der Waals a una matriz sólida. También se unen a superficies activadas químicamente mediante inmovilización covalente. Sin embargo, en algunas aplicaciones existen fallas debido a la débil interacción de las biomoléculas con la superficie del biosensor (Garipcan *et al.*, 2011). Los sensores se pueden fabricar en condiciones ambientales de presión y temperatura con alta precisión y estabilidad. Xu *et al.* (2014) desarrollaron un nanobiosensor desechable para la detección rápida de compuestos tóxicos en agua, como 2-antramina, naranja de acridina y 2-naftilamina. Este dispositivo se compone de ADN inmóvil sobre nanopartículas de oro modificado con cisteamina. Las nanopartículas mejoran la inmovilización del ADN, dando lugar a un aumento en la señal de guanina. La interacción del analito con el ADN inmovilizado se cuantificó mediante variaciones en la señal electroquímica de la guanina traducida a voltaje. Los resultados de los ensayos de genotoxicidad en muestras de agua de lagos integran el conjunto de tecnologías prometedoras para la detección de contaminantes en ambientes acuáticos. Los sensores enzimáticos ofrecen versatilidad y alta especificidad en la detección de compuestos orgánicos, tales como penicilina (Wu *et al.*, 2014a). El biosensor de tirosinasa con soporte de nanografeno permite la detección de 100 nmol L^{-1} a 2000 nmol L^{-1} de Bisfenol A (Wu *et al.*, 2012). El uso de nanografeno

en el biosensor mostró ventajas en términos de velocidad de respuesta, repetitividad y límite de detección con respecto a los nanotubos de pared múltiple con tirosinasa, lo cual puede atribuirse a que el nanografeno tiene mayor superficie específica y amplio fondo de tirosinasa.

CONCLUSIONES

Aunque el uso de nanoestructuras es cada vez más frecuente en los productos de consumo, los riesgos que pueden representar para el ambiente y la salud humana, en su mayoría aún se desconocen. Una razón importante es la falta de información y técnicas de detección e identificación sobre la cantidad de nanomateriales en circunstancias relevantes para el ambiente. Estas también deben discriminar entre las nanopartículas de origen antropogénico de aquellas que proceden de la naturaleza. De esta manera será posible determinar la influencia e implicaciones ambientales del uso de nanotecnología en diversos sectores del quehacer humano.

LITERATURA CITADA

- Afkhami A., Soltani-Felehgari F., Madrakian T., Ghaedi H. 2014. Surface decoration of multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode with gold nanoparticles for electro-oxidation and sensitive determination of nitrite. *Biosensors and Bioelectronics* 51:379-85.
- An B., Zhao D. 2012. Immobilization of As (III) in soil and groundwater using a new class of polysaccharide stabilized Fe-Mn oxide nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials* 211-212: 332-334.
- Benedicto A., Missana T. y Degueldre C. 2013. Predictions of TiO₂-driven migration of Se(IV) based on an integrated study of TiO₂ colloid stability and Se(IV) surface adsorption. *Science of the Total Environment* 449: 214-222.
- Buzea C., Pacheco-Blandino I. y Robbie K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2: 17-172.

Cuadro 2. Nanomateriales útiles como sensores de sustancias contaminantes presentes en diversas matrices.

Nanomaterial de detección	Rango de detección	Elemento detectado	Tipo de sensor	Referencia
Nanocomposito de fosfato poli- <i>o</i> -toluidina de Ce (IV)	1 μ M	Ni, Cu, Mg y Zn	Electroquímico	Khan y Akhtar, 2012
Nanocomposito de nanoplata- dióxido de titanio	0.13 μ M	Imidacloprí	Electroquímico	Kumaravel y Chandrasekara, 2011
Nanocompuesto amino funcionalizado con tetraetilenpentamina	0.29 mg kg ⁻¹	Organoclorados y organosfosforados	Cromatografía	Zhao <i>et al.</i> , 2011b
Nano óxido de zinc-grafito	2 ng mL ⁻¹	Metilparation	Electroquímico	Parham y Rahbar, 2010
NP de platino con grafeno carboxílico y electrodo de carbón vítreo modificado con nafion	De 1.0x10 ⁻¹⁰ a 1x10 ⁻⁸ M y de 1.0x10 ⁻¹⁰ a 1x10 ⁻⁸ M	Metilparation y carbofurano	Biosensor amperométrico de acetilcolinesterasa	Yang <i>et al.</i> , 2013
Nanotubos de carbono basados en colinesterasa	Detección cualitativa	Organofosforados y carbamatos	Enzimático	Yue y Dai, 2011
NP de oro modificadas con ciclo-dextrina-Gibbs/ Puntos cuánticos de grafeno	0.025-0.25 μ M	Fenol	Óptico	Padidem <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2014
Nanopartícula de disulfuro de molibdeno	2.5 nM.	H ₂ O ₂	Electroquímico.	Wang <i>et al.</i> , 2013b.
Nanotubos de carbono de pared múltiple de maíz sobre peroxidasa de rábano.	2-30 μ g L ⁻¹	Cadmio	Electro-enzimático	Moyo y Okonkwo, 2014
Soporte de nanografeno con tirosinasa	100 nmol L ⁻¹ a 2 μ mol L ⁻¹	Bisfenol A	Enzimático	Wu <i>et al.</i> , 2012
Nanopartículas de plata con β -alanina ditiocarbamato	Detección cualitativa	Hg ²⁺ y Fe ³⁺	Óptico	Bothra <i>et al.</i> , 2014
Puntos cuánticos de carbón acoplado a ácido fólico	Detección cualitativa en agua	Hg ²⁺	Fluorescencia	Zhang y Chen, 2014
Nanocompositos de níquel cubierta de carbon-quitosano	Detección cualitativa en agua	Catecol	Enzimática	Yang <i>et al.</i> , 2012
Nanotubos de carbono de pared múltiple y electrodo de carbono con NP de oro	Detección cualitativa en agua	Nitritos	Electro-oxidación	Afkhami <i>et al.</i> , 2014
Puntos cuánticos Zn/Se	Detección cualitativa en agua	Iones de Cu ²⁺	Espectroscopia de fluorescencia	Wu <i>et al.</i> , 2014ab

Bothra S., Solanki J.N., Sahoo S.K. y Callanc J.F. 2014. Anion-driven selective colorimetric detection of Hg²⁺ and Fe³⁺ using functionalized silver nanoparticles. *The Royal Society of Chemistry* 4: 1341-1346.

Carrillo, R. González C. 2011. Aplicaciones de la Nanotecnología en la Agricultura, Ganadería y Alimentación en México. *In: Takeuchi N. (ed). Nanociencia y Nanotecnología. UNAM*, pp. 139-164.

Cumbal L. y SenGupta A.K. 2005. Arsenic removal using polymer-supported hydrated iron(III) oxide nanoparticles: role of Donnan membrane effect. *Environmental Science and Technology* 39: 6508-6515.

Dercz G., Pjak L. Prusik K. 2007. Structure Analysis of Nanocrystalline MgO Aerogel prepared by sol-gel method. *Solid State Phenomena* 3: 203-206.

Dinesh R., Anandaraj M., Srinivasan V., Hamza S. 2012. Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity. *Geoderma* 173-174: 19-27.

Farkas J., Nizzeto L., Thomas K.V. 2012. The binding of phenanthrene

to engineered silver and gold nanoparticles. *Science of the Total Environment* 425: 283-288.

Fraser D. 1994. Glucose biosensors-The sweet smell of success. *Medical Device Technology* 5: 44-47.

Garipcan B., Oğuzhan Çağlayan M., Demirel G. 2011. New generation biosensors based on ellipsometry. *In: Serra A.P. (ed). New Perspectives in Biosensors Technology and Applications*, pp. 448.

Hrapovic S., Majid E., Liu Y., Male K., Luong J. 2006. Metallic nanoparticle-carbon nanotube composites for electrochemical determination of explosive nitroaromatic compounds. *Analytical Chemistry* 78: 5504-5512.

Hu J., Shipley H.J. 2012. Evaluation of desorption of Pb (II), Cu (II) and Zn (II) from titanium dioxide nanoparticles. *Science of the Total Environment* 431:209-220.

Khan A.A., Akhtar T. 2012. Cation-exchange kinetic studies on poly-*o*-toluidine Ce(IV) phosphate: a nano-composite and electrical conducting material. *Journal of Materials Science* 47: 3241-3247.

- Kumaravel A., Chandrasekaran M. 2011. Electrochemical determination of imidacloprid using nanosilver Nafion[®]/nanoTiO₂ Nafion[®] composite modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B* 158: 319-326.
- Liu R., Zhao D. 2013. Synthesis and characterization of a new class of stabilized apatite nanoparticles and applying the particles to in situ Pb immobilization in a fire-range soil. *Chemosphere* 91: 594-601.
- Liu W., Wang T., Borthwick A., Wang Y., Yin X., Li X., Ni J. 2013. Adsorption of Pb²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺ and Cr³⁺ onto titanate nanotubes: Competition and effect of inorganic ions. *Science of the Total Environment* 456-457: 171-180.
- McHenry M., Laughlin D. 2000. Nano-scale materials development for future magnetic applications. *Acta Materialia* 48:223-38.
- Milosevic O., Mancic L., Rabanal M., Gomez L., 2009. Aerosol route in processing of nanostructured functional materials. *Powder and Particle Journal* 27: 84-106.
- Moyo M., Okonkwo J.O. 2014. Horseradish peroxidase biosensor based on maize tassel-MWCNTs composite for cadmium detection. *Sensors and Actuators B* 193: 515-521.
- Padidem C.S., Bashir S., Liu J. 2011. Sensor enhancement using nanomaterials to detect pharmaceutical residue: nanointegration using phenol as environmental pollutant. *In: Serra A.P. (ed.). New Perspectives in Biosensors Technology and Applications*, pp. 448.
- Pan B., Xing B. 2012. Applications and implications of manufactured nanoparticles in soils. *European Journal of Soil Science* 63: 437-456.
- Parham H. Rahbar N. 2010. Square wave voltammetric determination of methyl parathion using ZrO₂-nanoparticles modified carbon paste electrode. *Journal of Hazardous Materials* 177: 1077-1084.
- Peng H., Feng S., Zhang X., Li Y., Zhang X. 2012. Adsorption of norfloxacin onto titanium oxide: Effect of drug carrier and dissolved humic acid. *Science of the Total Environment* 438: 66-71.
- Ribeiro J., DaBoit K., Flores D., Kronbauer M.A., Silva L.F. 2013. Extensive FE-SEM/EDS, HR-TEM/EDS and ToF-SIMS studies of micron- to nano-particles in anthracite fly ash. *Science of the Total Environment* 452-453: 98-107.
- Shih Y., Zhuang C., Peng Y., Lin C., Tseng Y. 2012. The effect of inorganic ions on the aggregation kinetics of lab-made TiO₂ nanoparticles in water. *Science of the Total Environment* 435-436: 446-452.
- Singh R., Misra V., Singh R.P. 2011. Synthesis, characterization and role of zero-valent iron nanoparticle in removal of hexavalent chromium from chromium-spiked soil. *Journal of Nanoparticle Research* 13:4063-4073.
- Shiple H., Engates K. 2011. Study of iron oxide nanoparticles in soil for remediation of arsenic. *Journal of Nanoparticles Response* 13: 2387-2397.
- Sun K., Zhang Z., Gao B., Wang Z., Xu D., Jin J., Liu X. 2012. Adsorption of diuron, fluridone and norflurazon on single-walled and multi-walled carbon nanotubes. *Science of the Total Environment* 439:1-7.
- Sun R., Wang Y., Ni Y., Kokot S. 2014. Graphene quantum dots and the resonance light scattering technique for trace analysis of phenol in different water samples. *Talanta* 125: 341-346.
- Takeuchi N. 2011. Nanociencia y nanotecnología: panorama actual en México. Centro de Nanociencias y Nanotecnología, UNAM. México, D.F.
- van Wieren E., Seymour D.M., Peterson W.J. 2012. Interaction of the fluoroquinolone antibiotic, ofloxacin, with titanium oxide nanoparticles in water: adsorption and breakdown. *Science of the Total Environment* 441: 1-9.
- Wang H., Xiang Z., Hu C.F., Pant A., Alonso S., Pastorin G., Lee G. 2013a. Development of stretchable membrane based nanofilters using patterned arrays of vertically grown carbon nanotubes. *Nanoscale* 5: 8488-8493.
- Wang T., Zhu H., Zhuo J., Zhu Z., Papakonstantinou P., Lubarsky G., Lin J., Li M. 2013b. Biosensor based on ultrasmall MoS₂ nanoparticles for electrochemical detection of H₂O₂ released by cells at the nanomolar level. *Analytical Chemistry* 85: 10289-10295.
- Wu Y., Tang L., Huang L., Han Z., Wang J. Pan H. 2014a. A low detection limit penicillin biosensor based on single graphene nanosheets preadsorbed with hematein/ionic liquids/penicillinase. *Materials Science and Engineering C* 39: 92-99.
- Wu D., Chen Z., Huang G., Liu X. 2014b. ZnSe quantum dots based fluorescence sensors for Cu²⁺ ions. *Sensors and Actuators A* 205: 72-78.
- Wu D., Pan B., Wu M., Peng H., Zhang D., Xing B. 2012. Coadsorption of Cu and sulfamethoxazole on hydroxylized and graphitized carbon nanotubes. *Science of the Total Environment* 427-428: 247-252.
- Xu H.B., Ye R.F., Yang S.Y., Li R., Yang X. 2014. Electrochemical DNA nano-biosensor for the detection of genotoxins in water samples. *Chinese Chemical Letters* 25: 29-34.
- Xu P., Zeng M., Huang L., Feng L., Hu S., Zhao S., Wei Z., Huang C., Xie X., Liu F. 2012. Use of iron oxide nanomaterials in wastewater treatment: A review. *Science of the Total Environment* 424: 1-10.
- Yang L., Xiong H., Zhang X., Wang S. 2012. A novel tyrosinase biosensor based on chitosan-carbon-coated nickel nanocomposite film. *Bioelectrochemistry* 84: 44-48.
- Yang L., Wang G., Liu Y. 2013. An acetylcholinesterase biosensor based on platinum nanoparticles-carboxylic graphene-nafion-modified electrode for detection of pesticides. *Analytical Biochemistry* 437:144-149.
- Yue X., Dai Z. 2011. Carbon Nanotube-Based Cholinesterase Biosensors for the Detection of Pesticides. *In: Serra A.P. (ed.). New Perspectives in Biosensors Technology and Applications*, pp. 448.
- Zhang G. 2011. Design and Fabrication of 3D Skyscraper Nanostructures and Their Applications in Biosensors. *In: Serra A.P. (ed.). New Perspectives in Biosensors Technology and Applications*, pp. 448.
- Zhang R., Chen W. 2014. Nitrogen-doped carbon quantum dots: Facile synthesis and application as a "turn-off" fluorescent probe for detection of Hg²⁺ ions. *Biosensors and Bioelectronics* 55: 83-90.
- Zhao C., Lizhong H., Zhang Q., Middelberg A. 2011a. Nanoparticle synthesis in microreactors. *Chemical Engineering Science* 66: 1463-79.
- Zhao Y.G., Shenb H.Y., Shia J.W., Chena X.H., Jina M.C. 2011b. Preparation and characterization of amino functionalized nano-composite material and its application for multi-residue analysis of pesticides in cabbage by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218: 5568-5580.
- Zhou C., Jiang W., Via B. 2014. Facile synthesis of soluble graphene quantum dots and its improved property in detecting heavy metal ion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 118: 72-76.

ABSORBER, INMOVILIZAR O ATRAPAR: FUNCIONES DE LAS PLANTAS EN LA REMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

ABSORBING, IMMOBILIZING OR TRAPPING: FUNCTIONS OF PLANTS IN THE REMEDIATION OF SITES CONTAMINATED BY POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS

Sánchez-López, A.S.¹; González-Chávez, M.C.A.^{2*}; Carrillo-González, R.²

¹Universidad Autónoma de Baja California, Bioingeniería; ²Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Postgrado en Edafología; Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México C.P. 56230.

*Autor de correspondencia: Email: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Para evaluar el potencial de diferentes especies vegetales silvestres en la remediación de sitios contaminados por elementos potencialmente tóxicos (EPT) se recolectaron plantas establecidas naturalmente en residuos de mina. Se determinaron las concentraciones de Zn, Cd, Pb, Cu, Ni y Co en tejidos vegetales y en residuos de mina rizosféricos. Basándose en los factores de bioconcentración y translocación, así como en el límite de fitotoxicidad se identificaron algunas especies para su uso potencial como extractoras o estabilizadoras de EPT. *Aster gymnocephalus* se clasificó como planta extractora de Zn, Cd, Pb y Cu, al igual que *Gnaphalium* sp., para Cu y *Crotalaria pumila* para Zn. *Pteridium* sp., es adecuada para fitoestabilización de Zn y Cd. Para estudiar la función de las plantas como barrera física que disminuye la dispersión de partículas que contienen EPT se compararon las concentraciones de dichos contaminantes en muestras de parte aérea de plantas lavadas y sin lavar. Se mostró que todas las especies retuvieron en sus hojas partículas que contienen EPT. En *Dichondra argentea* y *Viguiera dentata* la concentración de Zn en plantas no lavadas fue 14 veces mayor que en la de las lavadas. Las cubiertas vegetales compuestas por diversas especies vegetales presentaron al menos tres diferentes vías de remediación de suelos contaminados por EPT: i) estabilización en la raíz o en rizósfera, ii) acumulación en parte aérea y iii) retención de partículas que contienen EPT.

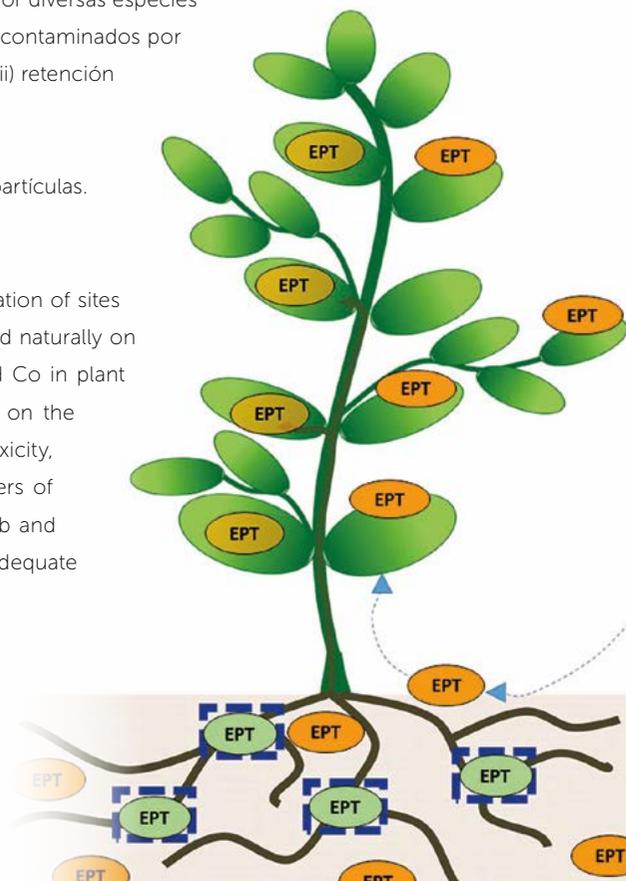
Palabras clave: fitoextracción, fitoestabilización, metales pesados, retención de partículas.

ABSTRACT

In order to evaluate the potential of different wild plant species in the remediation of sites contaminated by potentially toxic elements (PTEs), plants that were established naturally on mine residues were collected. The concentrations of Zn, Cd, Pb, Cu, Ni and Co in plant tissues were determined, as well as rhizosphere eden mine residues. Based on the factors of bioconcentration and translocation, as well as the limit of phytotoxicity, some species were identified for their potential use as extractors or stabilizers of PTEs. *Aster gymnocephalus* was classified as an extractor plant of Zn, Cd, Pb and Cu; and *Gnaphalium* sp., for Cu and *Crotalaria pumila* for Zn. *Pteridium* sp. is adequate

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 80-86.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.



for phytostabilization of Zn and Cd. To study the function of the plants as a physical barrier that decreases the dispersion of particles that contain PTE, the concentrations of these contaminants in samples from the aerial part of washed and unwashed plants were compared. It was shown that all the species retained on their leaves particles that contain PTEs. In *Dichondra argentea* and *Viguiera dentata* the concentration of Zn in unwashed plants was 14 times higher than the concentration on washed plants. The plant coverages composed by various plant species presented at least three different paths of remediation of soils contaminated by PTEs: i) stabilization on the root or the rhizosphere; ii) accumulation in the aerial part; and iii) retention of particles that contain PTEs.

Keywords: phytoextraction; phytostabilization; heavy metals; particle retention.

INTRODUCCIÓN

Como resultado de la explotación minera, se genera continuamente gran cantidad de residuos o jales. Estos se caracterizan generalmente por presentar concentraciones muy elevadas de diversos elementos potencialmente tóxicos (EPT) que pueden ser tóxicos (Zn, Cd, Pb, As, Cu, entre otros). Al permanecer continuamente expuestos a las condiciones ambientales su dispersión se presenta por viento, arrastre durante lluvias o lixiviación (Vangronsveld *et al.*, 1995 a, b; Jonathan *et al.*, 2010). Ante la problemática que causa la contaminación por EPT surge la fitorremediación como una alternativa viable para disminuir el riesgo de estos contaminantes (Peuke y Rennenberg, 2005). Esta consiste en el establecimiento de cubiertas vegetales, ya sea para evitar o disminuir la movilidad de los contaminantes, atrapándolos en la raíz de las plantas o en la rizósfera (fitoestabilización), o bien para extraer los contaminantes empleando especies que los acumulen en su tejido aéreo en altas concentraciones (fitoextracción) (Arthur *et al.*, 2005). Frecuentemente, los sitios contaminados presentan condiciones desfavorables para el establecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que solamente algunas especies pueden crecer en esas condiciones (González y González-Chávez, 2006). Debido a ello, toma importancia la búsqueda de especies vegetales con la capacidad de establecerse

en sitios contaminados por EPT. Adicionalmente, se ha mencionado que la superficie de las plantas actúa como depósito de contaminantes en zonas urbanas (Nowak *et al.*, 2006). Sin embargo, poco se sabe acerca de esta función respecto a la retención de EPT provenientes de residuos de minas, por lo que el objetivo del presente trabajo fue estudiar diferentes vías en las que las plantas contribuyen en la remediación de sitios contaminados por EPT.

MATERIALES Y MÉTODOS

La recolecta de plantas y residuos de mina se realizó en los depósitos conocidos como San Francisco y Santa María en el municipio minero de Zimapán, Hidalgo, México. El material colectado consistió de plantas completas y residuos de mina de la zona radical (rizósfera). Los EPT (Zn, Cd, Pb, Cu, Ni y Co) disponibles y totales en la rizósfera se determinaron por extracción con DTPA (DTPA-TEA-CaCl₂) y digestión en HNO₃, respectivamente. Las concentraciones se midieron en un espectrofotómetro de absorción atómica. En cuanto a las plantas, cada muestra se dividió en raíz y parte aérea. Esta última a su vez se subdividió en lavada y sin lavar. El procedimiento del lavado de la parte aérea fue: agua corriente (10 min), detergente libre de P (5 min), agua destilada (5 min), HCl 10% (10 min) y agua desionizada (10 min). Las raíces se lavaron siguiendo el mismo protocolo, pero el tiempo en agua corriente y en HCl 10% se incrementó al doble. Una vez secas (64 °C, 72 h) y molidas, los tres tipos de muestra vegetal se digirieron en medio ácido: H₂O₂ y solución H₂SO₄:HClO₄. A partir de la concentración de EPT en raíz, parte aérea y rizósfera se calcularon los factores de bioconcentración (FBC) y translocación (FT) mediante fórmula:

$$FBC = \frac{\text{Concentración de EPT en parte aérea lavada}}{\text{Concentración de EPT extraída con DTPA en rizósfera}}$$

$$FT = \frac{\text{Concentración de EPT en parte aérea lavada}}{\text{Concentración de EPT en raíz}}$$

Para el análisis de partículas en la superficie de las hojas, previo secarlas y molerlas, de muestras lavadas y sin lavar se removieron y cuantificaron las partículas retenidas en éstas, mediante imágenes (150x) obtenidas en el microscopio electrónico de barrido y la composición

de las mismas se determinó empleando un microanalizador de rayos X.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EPT en residuos de mina rizosféricos

La concentración de EPT en los residuos de mina rizosféricos fue variable entre sitios y especies vegetales; sin embargo, las que se observaron sugieren que son limitantes para su desarrollo. A pesar de ello fue posible encontrar especies vegetales, las cuales son potencialmente útiles en fitoremediación. En total, en ambos sitios se identificaron 12 especies vegetales, de las cuales cuatro se observaron en ambos sitios (Cuadro 1). Tomando en cuenta la concentración total de EPT en los residuos rizosféricos, el orden de abundancia fue Zn>Pb>Cu>Co>Ni>Cd. En el caso de las concentraciones totales de Pb todas las muestras superaron el límite máximo (800 mg kg⁻¹) para

suelo de uso industrial en México (NOM-147-SEMARNAT/SSA1, 2004), excepto por *Cuphea lanceolata* de San Francisco, *Crotalaria pumila*, *Flaveria trinervia* y *Dichondra argentea* del sitio Santa María, las rizósferas tuvieron concentraciones de Cd superiores al límite (37 mg kg⁻¹) señalado en la misma norma. Esta información confirma que los residuos de mina estudiados se pueden considerar como contaminados por EPT de acuerdo a la regulación mexicana. En la rizosfera de *Juniperus sp.* y *Dalea bicolor* en San Francisco, la concentración de Cd extraída con DTPA fue mayor que el límite indicado como peligroso para las plantas en la NOM-021-SEMARNAT-2002 (5 mg kg⁻¹). Las rizósferas de *Juniperus sp.*, *Brickellia veronicifolia*, ambas de San Francisco, y *Gnaphalium sp.* de Santa María, tuvieron concentración de Pb superior a la indicada (100 mg kg⁻¹) en la norma en mención.

Concentraciones de EPT en planta

La concentración de EPT en tejidos vegetales es útil para identificar plantas que acumulan o excluyen dichos contaminantes. Sin embargo, mejor aproximación representan los FBC y FT. El primero es la relación entre la concentración de EPT en el substrato y la concentración de este en la parte aérea de la planta. El FT es el cociente de la concentración de EPT en la parte aérea y en la raíz. Si el valor de ambos factores, FBC y FT es >1, la planta se considera extractora; si los valores son <1 hay mayor acumulación de EPT en la raíz y la planta se clasifica como estabilizadora (Yoon et al., 2006). Algunos autores han propuesto límites de fitotoxicidad para EPT (Vameralli et al., 2010), a partir de los cuales la mayoría de las plantas no podría desarrollarse adecuadamente. Tomando en cuenta los FBC y FT (Cuadro 1), así como los límites de fitotoxicidad (Figura 1),

Cuadro 1. Factores de Bioconcentración (FBC) y Transferencia (FT) de EPT en plantas creciendo en residuos de mina.

Especie/sitio	Zn		Cd		Pb		Cu		Ni		Co	
	FBC	FT	FBC	FT	FBC	FT	FBC	FT	FBC	FT	FBC	FT
San Francisco												
<i>Pteridium sp.</i>	0.7	0.2	1.1	0.1	2.6	0.2	10.0	0.4	7.7	0.4	14.0	0.4
<i>Juniperus sp.</i>	0.9	17.0	1.6	0.8	0.5	1.1	7.4	3.0	5.3	0.7	20.0	0.5
<i>Cuphea lanceolata</i>	7.7	6.7	4.6	0.6	2.4	0.6	30.0	3.9	1.6	0.5	170.0	0.6
<i>Dichondra argentea</i>	1.0	3.4	1.7	0.2	2.3	0.6	35.0	7.1	4.1	0.3	16.0	0.3
<i>Brickellia veronicifolia</i>	0.4	1.4	1.0	0.4	0.5	0.6	9.3	2.8	3.0	0.6	4.1	0.7
<i>Ruta graveolens</i>	0.4	2.5	2.4	0.3	2.2	1.0	11.0	2.9	4.8	0.8	20.0	0.7
<i>Dalea bicolor</i>	0.3	2.3	0.4	0.3	1.9	0.6	4.1	1.0	1.6	0.6	11.0	0.5
<i>Viguiera dentata</i>	0.6	0.9	2.0	0.2	2.6	0.5	10.0	1.2	2.6	0.6	10.0	0.5
Santa María												
<i>Aster gymnocephalus</i>	5.7	21.0	23.0	1.7	4.6	2.0	28.0	13.0	8.2	0.7	373.0	0.7
<i>Gnaphalium sp.</i>	8.6	21.0	27.0	1.2	1.7	1.6	125.0	28.0	7.3	0.8	31.0	1.2
<i>Viguiera dentata</i>	2.3	2.0	17.0	1.3	2.8	0.6	8.6	1.0	7.5	0.4	16.0	0.5
<i>Dalea bicolor</i>	2.7	3.3	32.0	1.3	4.6	0.9	8.0	1.6	8.6	0.5	7.8	0.5
<i>Crotalaria pumila</i>	27.0	12.0	20.0	1.4	12.3	1.1	6.6	9.2	7.4	0.6	9.8	0.6
<i>Brickellia veronicifolia</i>	2.2	4.2	16.0	1.4	4.2	1.3	3.8	1.4	4.7	0.5	12.0	0.5
<i>Flaveria trinervia</i>	4.8	11.0	75.0	1.1	8.6	1.0	55.0	5.6	11.0	0.5	45.0	0.6
<i>Dichondra argentea</i>	25.7	1.3	52.0	1.0	18.4	0.8	70.0	7.2	18.0	0.4	56.0	0.6

en este trabajo fue posible identificar especies potenciales en fitoextracción: *Aster gymnocephalus* para Zn, Cd, Pb, y Cu, *Gnaphalium* sp. para Cu y *C. pumila* para Zn. *Pteridium* sp. se clasificó como estabilizadora de Zn y Cd. Especies como *B. veronicifolia* y *Viguiera dentata* han sido reportadas como acumuladoras de Zn y Cu (Franco-Hernández et al. 2010; González and González-Chávez, 2006); *A. gymnocephalus* y *D. bicolor* como acumuladores de Pb y Zn, respectivamente (González and González-Chávez, 2006). Este hecho sugiere que dichas especies son altamente tolerantes a las condiciones de contaminación por EPT.

Retención de EPT en la superficie de las hojas

Los resultados de la concentración de EPT en parte aérea

rea sin lavar (Figura 1), así como el conteo y el análisis de partículas retenidas en hojas (Figura 2) mostraron que las plantas actúan como barrera física, evitando la dispersión de EPT. La concentración de EPT en muestras sin lavar registró hasta 14 veces más su valor que en muestras lavadas; por ejemplo: *D. argentea* de Santa María y *V. dentata* de San Francisco, ambas para Zn (Figura 1). En el caso de otros EPT, *C. lanceolata* fue la especie que retuvo la mayor proporción de Pb en sus hojas, mientras que *Pteridium* sp. y *V. dentata* de San Francisco retuvieron más Cd y Cu, respectivamente (Figura 1).

La cantidad de partículas retenidas en la superficie de hojas, fue mayor en plantas sin lavar que en lavadas

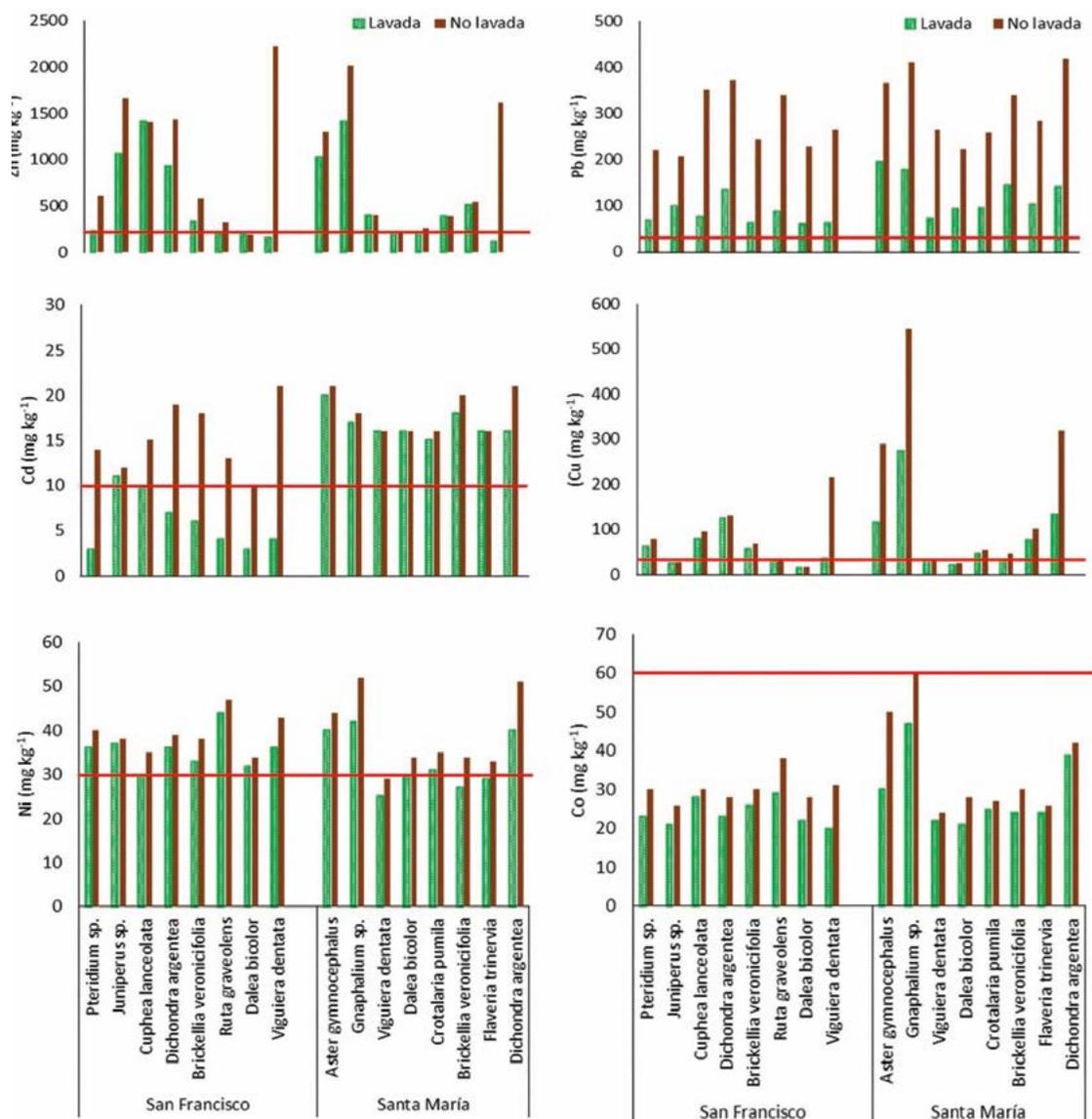


Figura 1. Concentración de EPT (mg kg⁻¹) en parte aérea de plantas encontradas en residuos de mina. Línea roja indica límite de fitotoxicidad, según reportes de Vamerli et al. (2010).

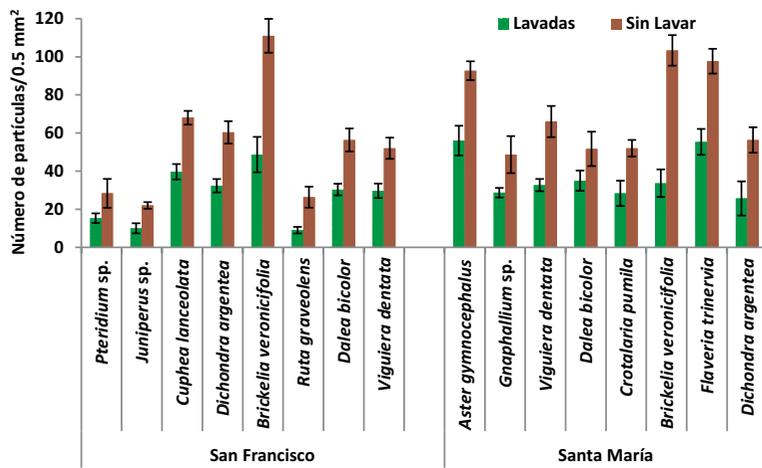


Figura 2. Cantidad de partículas en superficie de hojas de plantas encontradas en residuos de mina.

(Figura 2; Figura 3 A y B). La cantidad de partículas varió de acuerdo con las características morfológicas de las hojas de cada especie vegetal, principalmente la presencia y abundancia de tricomas, como en el caso de *D. argentea*, *A. gymnocephalus* y *Gnaphalium* sp. (Figura 3 C, D y E). Las partículas también se observaron retenidas por otras estructuras que forman cavidades en la superficie; por ejemplo: venas y estomas (Figura 3 F y G). Además de las características de las hojas, también se observó micelio fúngico reteniendo partículas en su superficie (Figura 3C). El análisis con rayos X (Figura 4) demostró que las partículas retenidas en hojas contienen EPT.

Previamente se ha documentado la importancia de las plantas en la retención de contaminantes como óxidos de nitrógeno y azufre (Nowak et al., 2006), y materia particulada en ambientes urbanos (Fujiwara et al. 2011), y con base en las evidencia aquí mostradas, este trabajo constituye el primer reporte respecto a la función de las plantas como barrera física, evitando la dispersión de EPT provenientes de residuos de mina.

CONCLUSIONES

Las plantas que crecen en residuos de minas son una alternativa para su uso en fitorremediación. En este trabajo se reconocen tres principales vías, por las cuales las plantas actúan en la remediación de los residuos de mina (Figura 5): acumulación de EPT en tejido aéreo, estabilización en la raíz y en la rizósfera, y como barreras físicas, lo cual disminuye la dispersión de partículas que contienen EPT.

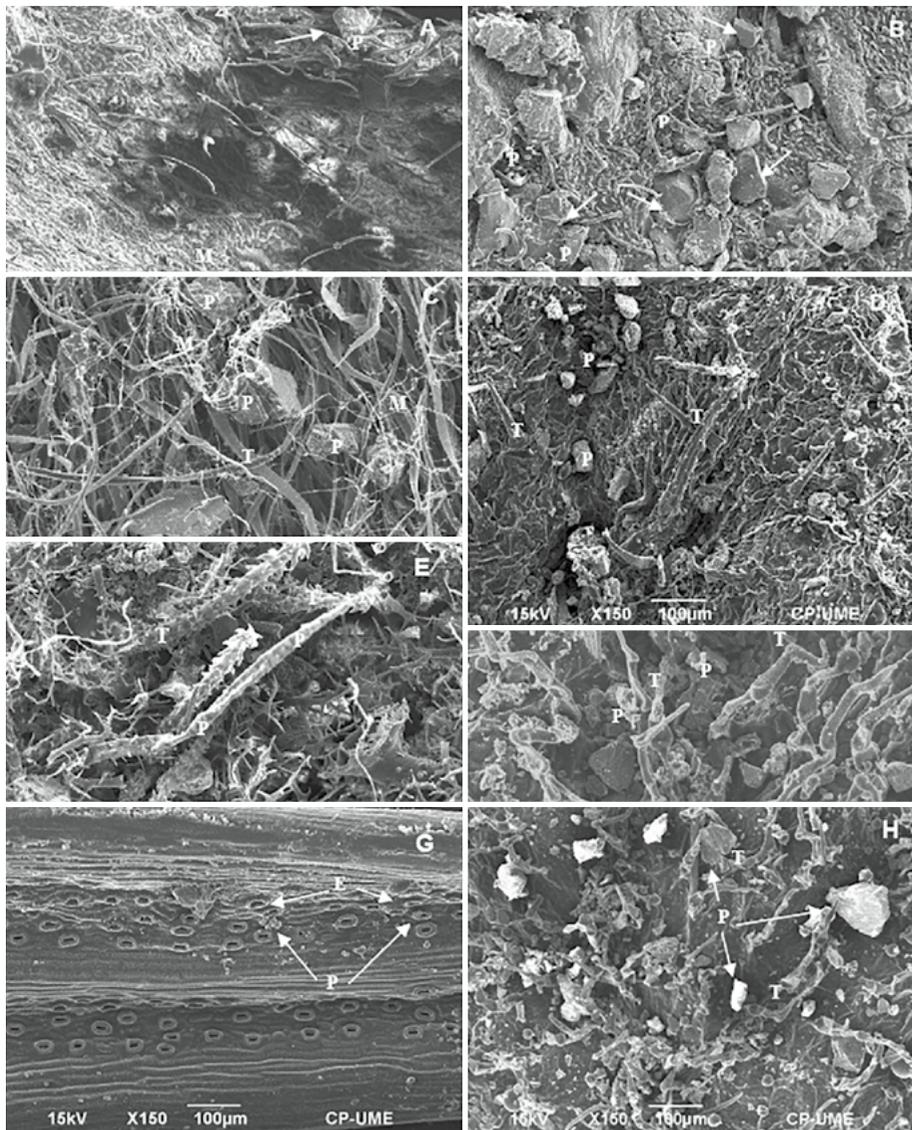


Figura 3. Presencia de partículas en la superficie de hojas de plantas creciendo en residuos de mina. *D. bicolor* lavada (A) y sin lavar (B); *D. argentea* (C), *A. gymnocephalus* (D), *Gnaphalium* sp. (E), *Juniperus* sp. (G) y *C. lanceolata* (H); P: partículas; T: tricomas; V: vena; E: estomas; M: micelio.

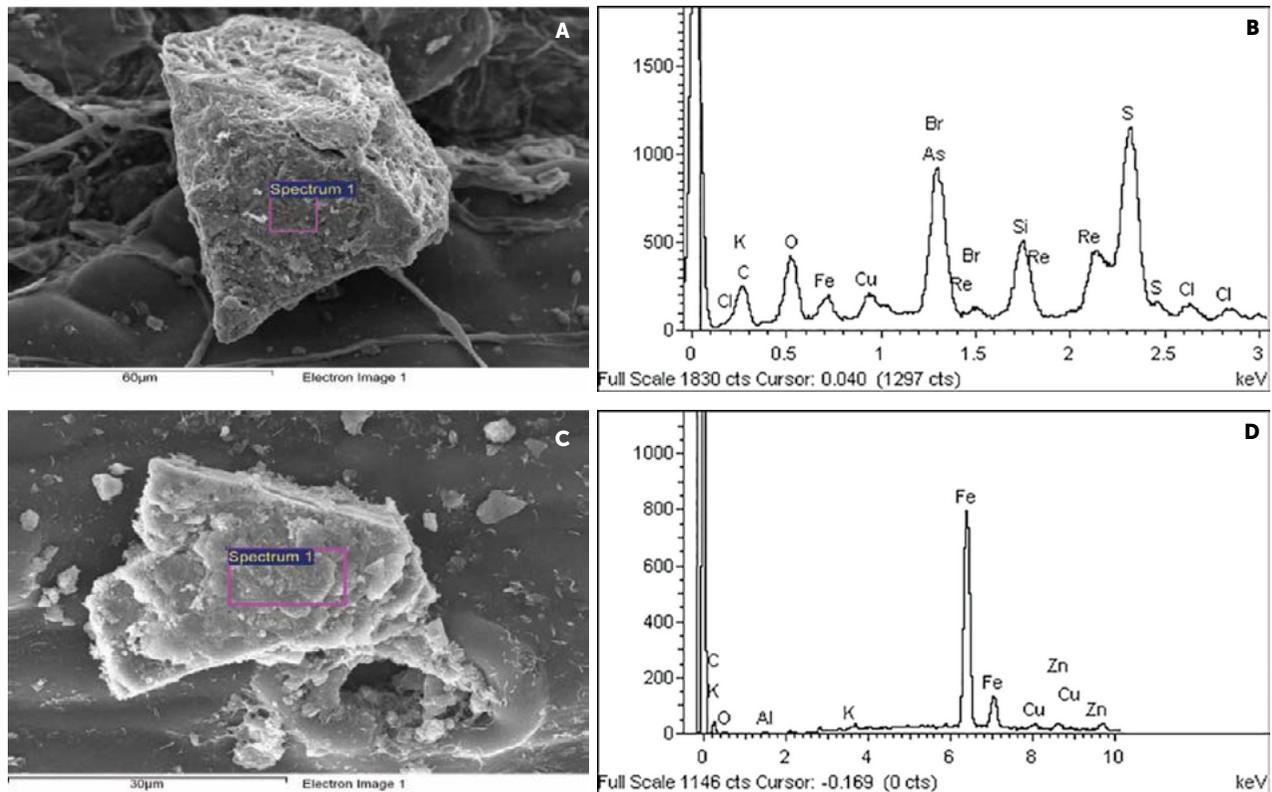
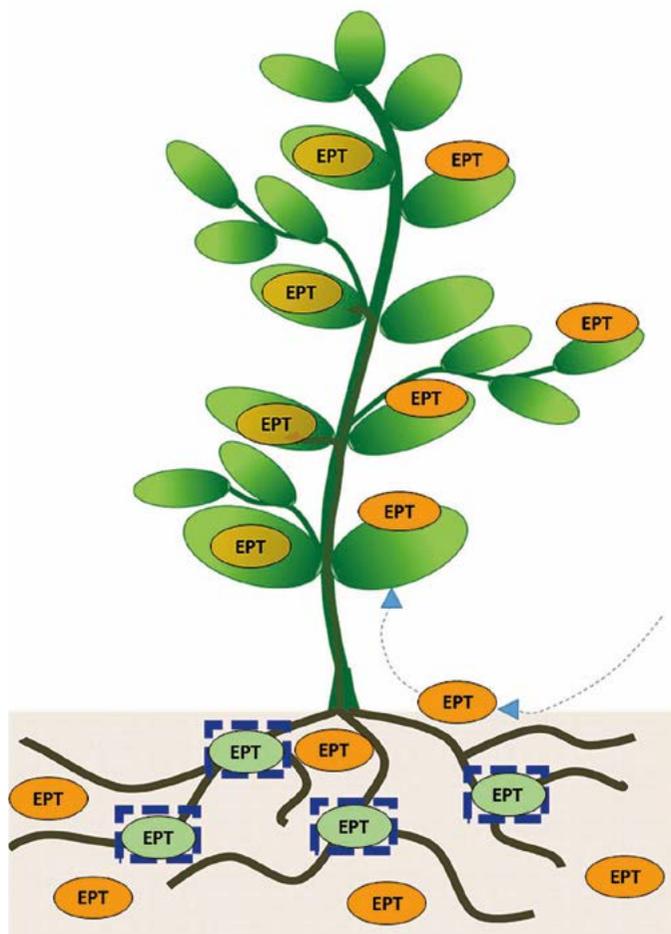


Figura 4. Imágenes y composición de partículas retenidas en hojas sin lavar de *V. dentata* (A, B) y *Juniperus* sp. (C, D), creciendo en residuos de mina. Rectángulos rosas muestran en área específica en donde se realizó análisis de con rayos X.



LITERATURA CITADA

Arthur E.L., Rice P.J., Rice P.J., Anderson T.A., Baladi S.M., Henderson K.L.D., Coats J.R. 2005. Phytoremediation-an overview. *Critical Reviews in Plant Science* 24,109–122.

Franco-Hernández M.O., Vásquez-Murrieta M.S., Patiño-Sicialiano A., Dendooven L. 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Bioresource Technology* 101, 3864–3869.

Fujiwara F.G., Gómez D.R., Dawidowski L., Perelman P., Faggi A. 2011. Metals associated with airborne particulate matter in road dust and tree bark collected in a megacity (Buenos Aires, Argentina). *Ecological Indicators* 11, 240–247.

González R., González-Chávez M.C.A. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution* 144, 84-92.

Jonathan M.P., Jayaprakash M., Srinivasalu S., Roy P.D., Thangadurai N., Muthuraj S., Stephen-Pitchaimani V. 2010. Evaluation of acid leachable trace metals in soils around a five centuries old mining district in Hidalgo, Central Mexico. *Water, Air and Soil Pollution* 205, 227-236.

Figura 5. Vías de remediación vegetal (fitorremediación) de sitios contaminados por EPT:

- Estabilización de EPT en la raíz y en la rizósfera (fitoestabilización)
- Acumulación de EPT en la parte aérea de la planta (fitoextracción)
- Deposition externa de partículas que contienen EPT en hojas (fitobarreras)

- Nowak D.J., Crane D.E., Stevens J.C. 2006. Air pollution removal by urban trees and shrubs in the United States. *Urban Forestry & Urban Greening* 4, 115–123.
- Peuke A.D., Rennenberg H. 2005. Phytoremediation. *EMBO Reports* 6:497–501.
- Vamerli T., Bandiera M., Mosca G. 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemical Letters* 8, 1–17.
- Vangronsveld J., Sterckx J., Van Assche F., Clijsters H. 1995a. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: effects of revegetation and metal immobilization by beringite. *Journal of Geochemical Exploration* 52, 221-229.
- Vangronsveld J., Van Assche F., Clijsters H. 1995b. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: in situ metal immobilization and revegetation. *Environmental Pollution* 87, 51-59.
- Yoon J., Cao X., Zhou Q., Ma L.Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368, 456-464.



ADICIÓN DE CAL PARA DISMINUIR LA DISPONIBILIDAD DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN UN RESIDUO DE MINA

REDUCTION OF PTE AVAILABILITY BY LIMING OF TAILING HEAPS

Carrillo-González, R.^{1*}; González-Chávez, M.C.A.¹; Navarro-Chávez, MF.¹

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

Autor de correspondencia: crogelio@colpos.mx

RESUMEN

Los residuos de mina se consideran pasivos ambientales y son una fuente de elementos potencialmente tóxicos (EPT) para el ambiente. La oxidación de los residuos de mina incrementa la liberación de esos elementos y los residuos oxidados son una fuente de acidez con fuerte impacto ambiental. El manejo de grandes volúmenes de residuos para su confinamiento involucra costos muy elevados que nadie quiere afrontar, por lo que es necesario buscar procedimientos económicos y eficientes para controlar la dispersión y oxidación de esos materiales. Bajo esta premisa es necesaria la evaluación de enmiendas para reducir la disponibilidad de EPT y los problemas derivados de la acidez de los escurrimientos de residuos de mina. Se evaluó la aplicación de cinco enmiendas sobre la disponibilidad de Cd, Cu, Zn y Pb en residuos ácidos de mina. Se observó clara reducción de la concentración extractable de estos elementos con excepción del Pb a altas dosis de enmiendas, por lo que se sugiere su uso para abatir la disponibilidad de Cd, Cu y Zn, y continuar con la búsqueda de mejores enmiendas para reducir la extractabilidad del Pb.

Palabras clave: remediación asistida con enmiendas, metales pesados.

ABSTRACT

Tailing heaps are a source of potentially toxic elements (PTE) in the environment. Their oxidation increases release of these elements and the subsequent acidity causes severe environmental impact. The management of large volumes of mine residues involves very high cost that nobody wants to face. Therefore, it is necessary to seek economic and efficient procedures to control the dispersion and oxidation of these materials. Evaluation of amendments to reduce PTE availability and the problems derived from the acidity of mine residues runoffs is indispensable for technology development. The effect of the addition of five amendments, on Cd, Cu, Zn and Pb availability was evaluated in acid mine residues. The addition of high doses of amendments induced a clear reduction of the extractable concentration of PTE, except Pb. Therefore, liming is suggested to decrease the availability of Cd, Cu and Zn. It is recommended to continue looking for amendments that decrease Pb extractable concentrations.

Keywords: assisted remediation with amendments, heavy metals.

MATERIALES Y MÉTODOS

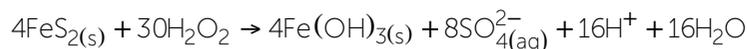
En la zona industrial del municipio de Zimapán, Hgo., México, se recolectaron residuos de mina oxidados arrastrados hacia el río Tolimán de los depósitos Preisser. Se hizo un muestreo compuesto integrado por seis muestras individuales, las cuales se secaron a la sombra y pasaron por un tamiz No. 10 (1.8 mm). El material se caracterizó (pH, conductividad eléctrica -CE-, densidad aparente -DA-, contenido de nitrógeno total -N-) de acuerdo con los procedimientos descritos en Rowell (1995), sales solubles por los procedimientos de Richard (1973), contenido de materia orgánica (Nelson y Sommers, 19) y concentración total de Fe, Mn, Cu, Zn, Pb y Cd (AOAC, 1990). Esta información sirvió para el cálculo de las dosis aplicadas y control de la humedad durante el experimento para evitar lixiviación. Los residuos oxidados se caracterizan por su color amarillo (2.5Y8/6–2.5Y8/8). El pH y la conductividad eléctrica (CE; Cuadro 1) se deben a la cantidad de sulfato soluble y otros iones presentes. El N es muy bajo, pues el residuo de mina (RM) está constituido principalmente de roca molida. El contenido de materia orgánica también es muy bajo (menor a 0.5%), aunque durante la determinación húmeda se observó reacción del dicromato de potasio debido a la presencia de los metales y sulfuros que reducen este reactivo.

Fuentes de calcio

Se eligieron cinco fuentes de calcio 1) CaO-R=óxido de calcio grado reactivo analítico (CaO), 2) CaO-C= óxido de calcio grado comercial, 3) Ca(OH)₂-R=hidróxido de calcio grado reactivo analítico, 4) Ca(OH)₂-C=hidróxido de calcio grado comercial y 5) Cal-C=cal de

INTRODUCCIÓN

La actividad minera en México ha desencadenado diversos problemas a lo largo de los años y ha causado muchos efectos nocivos en el ambiente; por ejemplo, la destrucción de los recursos bióticos durante la apertura y la operación de las minas (Studnicki-Gizbert *et al.*, 2010), la acidificación de suelos por la formación de lixiviados ácidos, lo cual puede afectar el desarrollo vegetal (Berglund *et al.*, 2004). La dispersión de EPT (Carmona *et al.*, 2016) puede causar la contaminación de cuerpos de agua y suelos circundantes (González y González-Chávez, 2006), y debido a que estos efectos persisten en el ambiente por periodos muy largos, es necesario estudiar alternativas de mitigación y remediación, tales como las enmiendas inorgánicas, entre las que están la cal. En general, se considera que los requisitos necesarios para que las enmiendas sean redituables es que sean disponibles y de fácil manejo y eficiencia en la reducción de la movilidad de los EPT. Estas características permiten su aplicación en el ambiente sin riesgos de contaminación y pueden disminuir la disponibilidad de los EPT, los cuales se encuentran en altas concentraciones en residuos de mina. El procedimiento que nos da información de la cantidad de cal necesaria para neutralizar la acidez potencial de los residuos se basa en considerar el porcentaje de sulfuros presentes en los residuos, pues éstos al oxidarse generan sulfatos, cuya reacción ácida causa escurrimientos con pH muy bajo. La reacción se aprecia en:



En teoría, si se agrega una enmienda que proporcione iones para neutralizar los iones ácidos presentes o que se pueden formar, se controla la acidez. Los residuos de mina de Zimapán, Hgo. México, contienen pirita (FeS₂), arsenopirita (AsFeS) y otros sulfuros como la galena (PbS), la calcocita (CuS) y la esfalerita (Zn(Fe)S), todos ellos susceptibles de oxidarse, y algunos de estos minerales se encuentra asociados (Da Silva *et al.*, 2003). La oxidación de esfalerita puede ser circuneutral; entonces, el cálculo basado solo en el contenido de azufre no siempre es preciso, por lo que se requiere hacer la cuantificación experimental (Heidel *et al.*, 2011). Para determinar la cantidad de calcita necesaria para neutralizar los iones hidronio generados se usa la siguiente ecuación propuesta por Sobek *et al.* (1978), donde cada mol de calcita pura es suficiente para neutralizar dos moles de hidronio:



El tiempo de reacción depende de la temperatura y tamaño de partícula. La estabilidad de la reacción depende de la capacidad de amortiguamiento de la acidez total del sistema, por lo que una determinación confiable del azufre total es básica para el cálculo de la cal requerida. Con esta información se pueden hacer ensayos para estimar la cantidad óptima de enmienda necesaria para neutralizar la acidez formada. Además, la adición de estas enmiendas mejora las condiciones del suelo para el desarrollo de las plantas, incluyendo la disponibilidad de algunos nutrientes (Tyler y Olsson, 2001).

Cuadro 1. Algunas características del residuo de mina.

Sustrato	pH	CE ($\mu\text{S m}^{-1}$)	DA (g cm^{-3})	SO_4^{2-}	S total	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	N total (%)
				(mg kg^{-1})						
Preisser	2.8±0.1	3.05±0.2	1.43±0.1	3185±56	3629±23	0.014±0.01	0.004±0.01	1244±2	557±9	0.03±0.05

DA=densidad aparente, SO_4^{2-} sulfatos, S total=azufre total, Na^+ sodio, K^+ potasio, Ca^{2+} calcio, Mg^{2+} magnesio, N total=nitrógeno total.

construcción (CaCO_3). Se cuantificó la concentración de calcio en estas enmiendas de prueba, considerando 1 g de la fuente de cal disuelta en ácido clorhídrico y agua desionizada. Las muestras se filtraron y las concentraciones de calcio y magnesio se cuantificaron en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Incubación de un residuo de mina y enmiendas

Las mezclas de residuos de mina con las enmiendas se incubaron por dos semanas en invernadero simulando las condiciones de campo. Los 16 tratamientos fueron: tres dosis de enmienda (2%, 4% y 6%), cinco fuentes de calcio (se mencionaron anteriormente) y un testigo (RM sin adición de calcita). Las mezclas se humedecieron con agua desionizada a 80% de su capacidad de campo y se incubaron. Después de este periodo se determinaron las concentraciones extractables (con DTPA-TEA- CaCl_2) de Cd, Cu, Pb y Zn (Lindsay y Norvell, 1978). También se midió el pH y la CE periódicamente en todos los tratamientos para seguir los cambios durante el proceso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH inicial del residuo de mina fue 2.7 y después de dos semanas de incubación con las fuentes de calcio el máximo incremento de pH (7.9) fue con CaO-C (Figura 1). El pH aumentó de manera exponencial ($\text{pH}=0.1884\text{X}^2-0.4919\text{X}+2.81$;

$\text{R}^2=0.99$) en todos los tratamientos, aunque la adición de CaO-C alcanzó el valor más alto de pH (7.98). En contraste, con la Cal-C el pH solo llegó a 6.47. La adición de cal (4-6 g) redujo la CE entre 46% y 58% (Figura 2), con una tendencia exponencial negativa ($\text{CE}=4.77\text{e}^{-0.151\text{X}}$; $\text{R}^2=0.953$). La CE original del RM fue de 4.7 y se redujo a 1.95 mS m^{-1} por la adición de CaO-C; sin embargo, no hubo diferencia por la fuente de calcio, lo que implica que la adición de estas enmiendas ayuda a reducir las sales solubles y mejorar las condiciones para las plantas, posiblemente por precipitación por efecto de ion común o por la formación de nuevos minerales de baja solubilidad, como carbonatos.

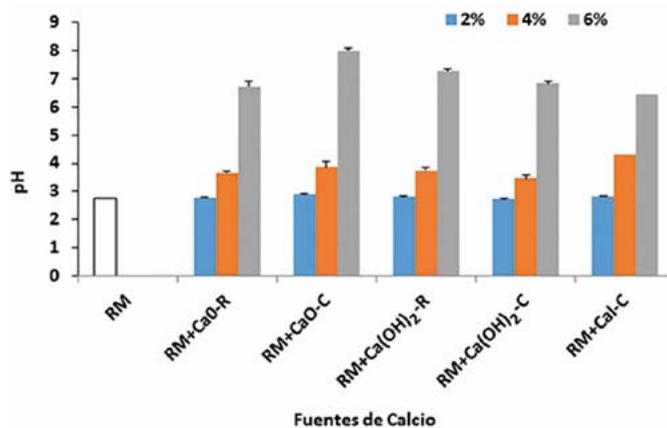


Figura 1. pH de la reacción de residuo de mina con tres dosis de cinco fuentes de calcio. Se muestran promedio y desviación estándar, $n=3$. RM=residuo de mina sin tratar, CaO-R=óxido de calcio grado reactivo, CaO-C=óxido de calcio grado comercial, Ca(OH)_2 -R=hidróxido de calcio grado reactivo, Ca(OH)_2 -C=hidróxido de calcio grado comercial, Cal-C=cal de construcción.

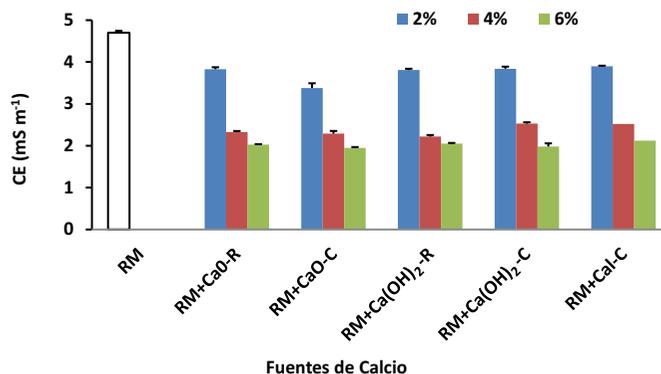


Figura 2. Conductividad eléctrica de la reacción de residuo de mina con cinco fuentes de calcio. Se muestran promedio y desviación estándar, $n=3$. RM=Residuo de mina sin tratar, CaO-R=óxido de calcio grado reactivo, CaO-C=óxido de calcio grado comercial, Ca(OH)_2 -R=hidróxido de calcio grado reactivo, Ca(OH)_2 -C=hidróxido de calcio grado comercial, Cal-C=cal de construcción.

La concentración inicial total de EPT en los residuos fue alta (Cuadro 2). El elemento en mayor concentración fue Fe, seguido por Zn, Pb y Mn. La proporción de EPT disponibles fue mucho menor pero, aun así, son lo suficientemente tóxicos para evitar que las plantas se desarrollen en estos residuos. La toxicidad de los EPT se suma al efecto corrosivo de la acidez, por

Cuadro 2. Concentración inicial de EPT en los residuos (mg kg⁻¹).

Fe		Zn		Cu		Mn		Cd		Pb	
Total	DTPA	Total	DTPA	Total	DTPA	Total	DTPA	Total	DTPA	Total	DTPA
9822±119	4357±108	8950±316	680±17	525±14	270±2.9	1193±142	33±3	24±3	2.4±0.2	6533±1007	1.9±0.56

Se muestra promedio y desviación estándar, n=3.

lo que los RM han permanecido sin vegetación desde hace más de tres décadas. La proporción de EPT extractables respecto a los totales fue <43% de Cu, <23% de Cd, <6% de Zn y <2% de Pb. Es importante disminuir esta concentración de elementos disponibles para permitir el crecimiento de las plantas.

La adición de enmiendas de calcio fue efectiva para abatir las concentraciones extractables de los EPT, excepto para Pb (Figura 3). Se observó efecto variable sobre la concentración soluble de los EPT (datos no mostrados), la cual dependió de las

propiedades químicas del EPT, por lo que no hay una fuente que tenga la misma eficiencia en abatir la concentración soluble de todos los EPT determinados; por ello, posiblemente sea necesario el uso combinado de materiales. La incorporación de 2% de las enmiendas disminuyó solo ligeramente la concentración de Zn-DPTA desde 650 mg kg⁻¹ a 500 y 300 mg kg⁻¹, dependiendo del material adicionado, pero cuando se incorporó más de 4% la concentración se redujo notablemente de 200 a 100 mg kg⁻¹. Este cambio puede ser descrito con la siguiente ecuación: Zn=50.23 X²-423X+928

con R²=0.79. Todas las enmiendas fueron igualmente eficientes para abatir la concentración de Zn. En el caso del Cu, la incorporación de la dosis más baja tuvo efecto similar, pues su concentración disminuyó de 270 mg kg⁻¹ a menos de 75 mg kg⁻¹. En este caso los cambios se ajustan con la ecuación Cu=19.76 X²-169.4X+349 con R²=0.86.

El Cd extractable también se redujo con la adición de las enmiendas (de 4.5 mg kg⁻¹), pero en forma menos pronunciada y diferencial, lo que dependió del porcentaje de enmienda aplicada. La menor concentración

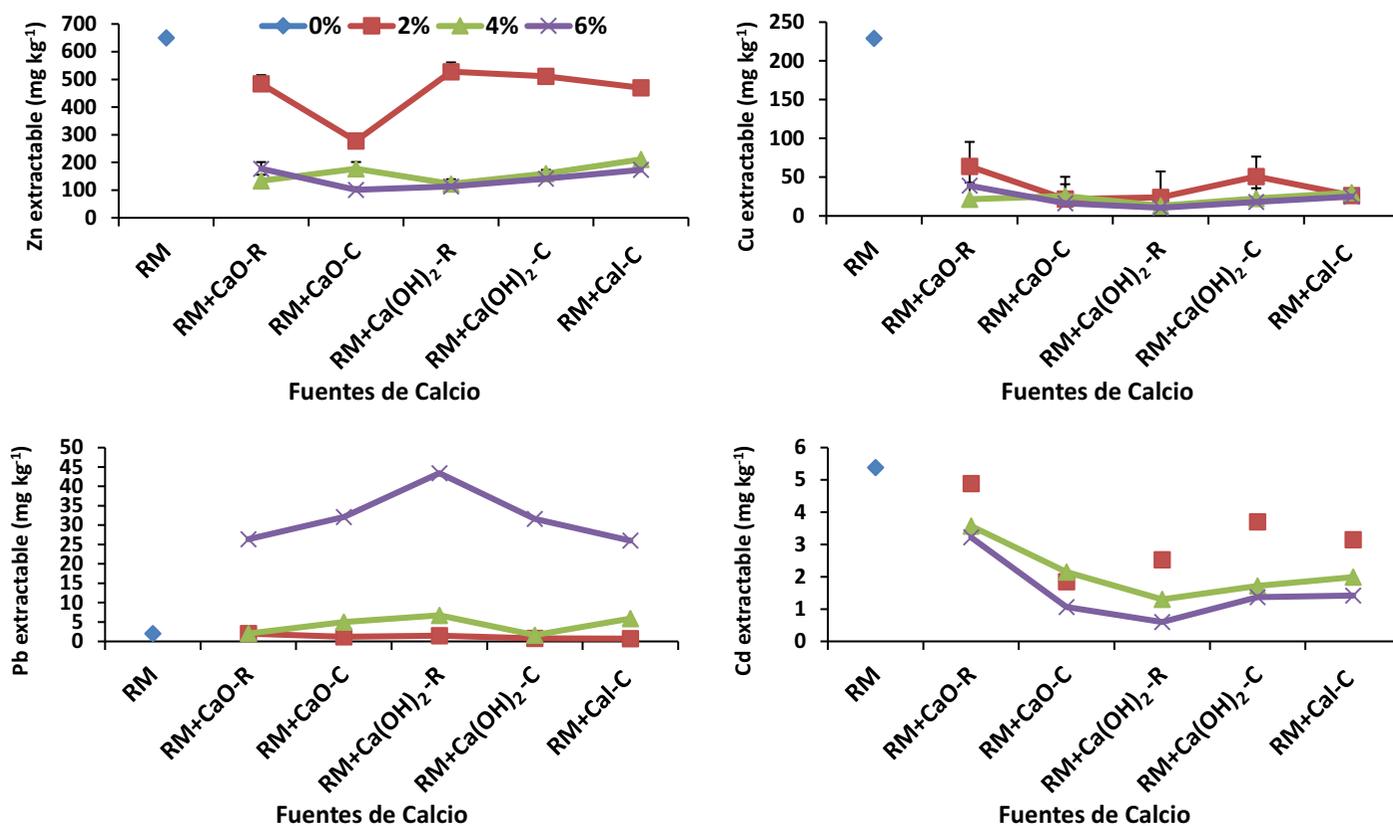


Figura 3. Efecto de tres dosis de cinco fuentes de calcio en la concentración extractable de EPT en un residuo de mina. Se muestran promedio y desviación estándar, n=3. RM=Residuo de mina, CaO-R=óxido de calcio grado reactivo, CaO-C=óxido de calcio grado comercial, Ca(OH)₂-R=hidróxido de calcio grado reactivo, Ca(OH)₂-C=hidróxido de calcio grado comercial, Cal-C=cal de construcción.

observada fue de 1.1 mg kg^{-1} . La ecuación que ajusta la reducción del Cd extractable con dosis de 6% es $\text{Cd} = 0.318 X^2 - 2.9 X + 8.01$ con $R^2 = 0.98$. En el caso del Pb se observó un comportamiento distinto a los otros elementos, ya que con las dosis de 2% de enmiendas la concentración de Pb se mantuvo baja, pero al incrementar el porcentaje aplicado de cal la concentración extractable de Pb aumentó. Se ha calculado la actividad del ion Pb^{2+} en presencia de alta actividad de los iones OH^- , la cual induce la formación de complejos de Pb solubles como $(\text{Pb}(\text{OH})_2^0, \text{Pb}(\text{OH})_3^-)$. Esto significaría que el Pb detectado está en forma no tóxica para los organismos. La aplicación de las enmiendas como el CaCO_3 limita la acidificación; además, favorece la precipitación de Zn, Cu y Cd. Según Simon *et al.* (2010), el carbonato de calcio promueve la precipitación de Fe y de sulfatos liberados durante la oxidación de minerales sulfurosos. El mecanismo propuesto es la formación de hidrosulfatos de Fe, en los cuales se retienen iones móviles. Van der Waals *et al.* (2005) han puntualizado que el aumento en la extractabilidad de Pb, posterior a la adición de cal, debe considerarse para el establecimiento de estrategias de inmovilización de estos elementos. De las enmiendas usadas, las de mayor disponibilidad son la Cal-C y el CaO-C; este último material debe manejarse con precaución debido a su carácter oxidante más fuerte que el de la cal. El costo por kg de Cal-C es de US\$ 0.1 por kg y el CaO-C es de US\$0.36 por kg. Estos resultados son alentadores; sin embargo, se requiere más investigación para seleccionar enmiendas eficientes para remediar RM con

base en la reacción a mediano y largo plazo, especialmente en relación con la disponibilidad de Pb (Van Der Waals *et al.*, 2005). Actualmente se trabaja en la combinación de enmiendas para obtener una estrategia que permita abatir iones, cuyo comportamiento es distinto.

CONCLUSIONES

El uso de las cinco enmiendas tuvo efecto semejante en la disponibilidad de los elementos analizados contenidos en el residuo de mina, por lo que considerando el costo de ellos y la facilidad de obtención se puede recomendar usar los más económicos, como la cal de construcción y el óxido de calcio comercial. La dosis recomendada es de 4%, lo que implica un costo de US\$4.00 para la cal de construcción y US\$14.40 para el óxido de calcio comercial por tonelada de residuo de mina. Se considera necesario continuar con la evaluación de las enmiendas en combinación con otros materiales, así como estudiar los cambios en la disponibilidad del Pb a mediano y largo plazo para lograr su estabilización. Con ello se obtendrá un residuo de mina con mayor expectativa para revegetación y una fitorremediación exitosa.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, pp. 84–85.
- Lindsay W.L., Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *J. Am. Soil Sci. Soc.* 42, 421-428.
- Nelson D.W., Sommers L.E. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter, in: A.L. Page (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part II*, 2nd ed. Agronomy 9, 539–580.
- Richards L.A. 1973. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Departamento de agricultura de los Estados Unidos de América. Limusa. D.F. México.
- Sobek A.A., Schuller W.A., Freeman J.R., Smith R.M. 1978. Field and laboratory methods applicable to overburdens and mine soils. EPA-600/2-78-054.
- Berglund C., Johansson T. 2004. Jamaican deforestation and bauxite mining – the role of negotiations for sustainable resource use. *Minerals & Energy - Raw Materials Report* 19: 2–14. doi:10.1080/14041040310034383.
- Studnicki-Gizbert D., Schechter D. 2010. The environmental dynamics of a colonial fuel-rush: silver mining and deforestation in New Spain, 1522 to 1810. *Environmental History*. doi:10.1093/envhis/emq007.
- Heidel C., Tichomirowa M., Bretkopf C. 2011. Sphalerite oxidation pathways detected by oxygen and sulfur isotope studies. *Applied Geochemistry* 26: 2247–59. doi:10.1016/j.apgeochem.2011.08.007.
- Silva G.Da., Lastra M.R., Budden J.R. 2003. Electrochemical passivation of sphalerite during bacterial oxidation in the presence of galena. *Minerals Engineering* 16: 199–203. doi:10.1016/S0892-6875(03)00010-4.
- González C.R., González Chávez M.C.A. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution* 144: 84-92.
- Simón M., Díez M., González V., García I., Martín F., Haro de S. 2010. Use of liming in the remediation of soils polluted by sulphide oxidation: A leaching-column study. *Journal of Hazardous Materials* 180: 241–46. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.04.020.
- Van Der Walls J.H., Snyman H.G., Claassens A. S. 2005. Increase in metal extractability after liming of sacrificial sewage sludge disposal soils. *Water SA* 31: 271–73.
- Tyler G., Olsson T. 2001. Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. *European Journal of Soil Science* 52: 151–65. doi:10.1046/j.1365-2389.2001.00360.x.

DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO UTILIZANDO UN MICROBIOMA AGRÍCOLA

DEGRADATION OF PETROLEUM HYDROCARBONS USING AN AGRICULTURAL MICROBIOME

Cruz-Narváez, Y.¹; Rico-Arzate, E.^{*1}; Castro-Arellano, J.¹; Guajardo-Hernández, L.G.²; Almeraya-Quintero, S.X.²

¹Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias, Unidad Profesional Adolfo López Mateos Del. Gustavo A. Madero Ciudad de México C.P. 07738. ²Estudios del Desarrollo Rural, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.

***Autor de Correspondencia:** ericoarz@yahoo.com

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la capacidad de degradación de un microbioma, extraído de un suelo agrícola del sureste mexicano contaminado con hidrocarburos del petróleo, como método de biorremediación. Se prepararon muestras de agua contaminada con diesel comercial y con un petróleo ligero de 30°API. Las muestras fueron inoculadas con el microbioma en crecimiento, analizándose la concentración de hidrocarburos por cromatografía de gases (GC-FID), espectroscopía UV-vis e IR-ATR, el crecimiento microbiano por cuenta en placa. Se obtuvieron eficiencias de degradación de 95 % para las muestras de agua contaminadas con petróleo y 98 % para las muestras de agua contaminadas con diesel.

Palabras clave: biodegradación, aerobio, adaptación.

ABSTRACT

In this study, the degradation capacity of a microbiome extracted from an agricultural soil in the Mexican southeastern area contaminated with petroleum hydrocarbons was researched as a bioremediation method. Samples of contaminated water were prepared with commercial diesel and light petroleum of 30°API. The samples were inoculated with the growing microbiome, and the concentration of hydrocarbons by gas chromatography (GC-FID), spectroscopy UV-vis and IR-ATR, microbial growth by count on a sheet was analyzed. Degradation efficiencies of 95 % were obtained for the water samples contaminated with petroleum and 98 % for the samples of water contaminated with diesel.

Keywords: biodegradation, aerobic, adaptation.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril, 2017. pp: 92-99.

Recibido: febrero, 2017. **Aceptado:** abril, 2017.

INTRODUCCIÓN

La Comisión Nacional de Hidrocarburos (CNH) ha reportado que desde el año 2000 se han derramado 93320 barriles de petróleo, de los cuales 85% han sido en tierra (CNH, 2014). Las alternativas para limpieza y descontaminación de zonas impactadas son muy caras, difíciles de aplicar, o bien, provocan que la contaminación se extienda a mayores áreas (Cummings, 2010). Entre estas alternativas están el lavado de suelos, el uso de barreras reactivas o la oxidación con agentes químicos. En algunas de estas técnicas se producen intermediarios por oxidación, los cuales tienen mayor toxicidad que los compuestos inicialmente presentes (Huaiquilaf, 2008). La aplicación de microorganismos con actividad degradadora es una estrategia que se ha utilizado desde hace varias décadas (González *et al.*, 2010). Su versatilidad y su impacto positivo en el ambiente han sido reportados (D'adamo *et al.*, 1984; Huaiquilaf, 2008; Kaplan and Kitts, 2004; Kurisu, 2008; Tahhan *et al.*, 2011). También se ha demostrado que tiene efectos como mejorador de suelos, haciéndolos aptos para el cultivo de algunas especies vegetales. Los microorganismos tienen diferentes mecanismos a través de los cuales son capaces de metabolizar los hidrocarburos, sin embargo, existen limitaciones que se relacionan con la presencia o ausencia de oxígeno, elementos esenciales y con la concentración de hidrocarburos en el medio. El mecanismo para conseguir la degradación de hidrocarburos puede ser aerobio o anaerobio. En ambos casos el microorganismo debe ingresar las moléculas del hidrocarburo al interior de su membrana celular mediante diferentes vías, y para lograrlo, puede involucrar la acción de exoenzimas, las cuales disminuyen el tamaño de la molécula, o surfactantes, sintetizados por el propio microorganismo, para hacer biodisponible las moléculas. Por tanto, existen propiedades que cambian en un sistema contaminado y que son evidencia indirecta de actividad metabólica sobre los hidrocarburos contaminantes, tal como la variación de la tensión superficial (Das y Chandran, 2011). Aunque la importancia de la actividad microbiana en pozos petroleros se conoce desde hace mucho tiempo, el estudio sobre la naturaleza y diversidad del desarrollo bacteriano en esos ecosistemas es pobre y su actividad metabólica *in situ* aún no ha sido totalmente esclarecido (Magot *et al.*, 2000). Una amplia variedad de microorganismos han sido aislados o detectados en fracciones de crudo mediante técnicas moleculares (aerobias, anaerobias facultativas y microaerofílicas). Las transformaciones que los microorganismos pueden llevar a cabo han revolu-

cionado la industria petroquímica en los últimos 20 años y estas incluyen biodesulfuración, biodenitrogenación, biodesmetalización, bioemulsificación y recuperación mejorada de petróleo por microorganismos (Magot *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2012). Todas las operaciones en la industria del petróleo, tales como exploración, producción, transporte y refinamiento son fuentes potenciales de contaminación de agua, suelo y aire (Caliman *et al.*, 2011). Entre las tecnologías disponibles para la limpieza de zonas contaminadas por hidrocarburos, la biorremediación y fitorremediación son las más económicas y más amigables con el ambiente. Las bacterias son capaces de degradar compuestos tóxicos orgánicos, tales como xenobióticos, que incluyen herbicidas, pesticidas, refrigerantes, solventes, etcétera. también actúan como mejoradores de la fitorremediación, participando activamente en el proceso (Glick, 2010; Singh *et al.*, 2012). La comprensión de los procesos involucrados en la biotransformación, biodegradación y biorremediación del petróleo por parte de los microorganismos ha ido esclareciéndose, gracias al desarrollo de técnicas moleculares, debido a que menos de 1% de microorganismos son cultivables en condiciones de laboratorio. Estas técnicas permiten estudiar material genético de todo un conjunto de microorganismos sin necesidad de aislar y cultivar. Estas mismas técnicas han permitido la caracterización detallada de la estructura de la membrana bacteriana, lo cual permite establecer mecanismos de ingreso y ascensión de las moléculas de hidrocarburos al interior celular (Van Hamme *et al.*, 2003). La comprensión de este mecanismo es vital para la aplicación de principios correctos de ingeniería (Singh *et al.*, 2012; Van Hamme *et al.*, 2003). Se ha reportado el uso de microorganismos para el monitoreo de diferentes compuestos orgánicos contaminantes como alcanos, benceno y derivados, naftaleno, salicilatos, bifenilos policlorados y clorocatecoles (Daunert *et al.*, 2000). Entre los microorganismos reportados con actividad degradadora de hidrocarburos se encuentran *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* y *Rhodococcus* (Das and Chandran, 2011). En el metabolismo aerobio de alcanos, *Pseudomonas putida*, con la enzima monooxigenasa unida a la membrana permite la conversión de un alcano en un alcohol, el cual puede ser oxidado más tarde en un aldehído y en ácido para proceder a la β -oxidación y al ciclo de los ácidos tricarbónicos (Patel *et al.*, 2012; Van Hamme *et al.*, 2003). En la Figura 1 se muestra la regulación que se lleva a cabo por un par de operones para

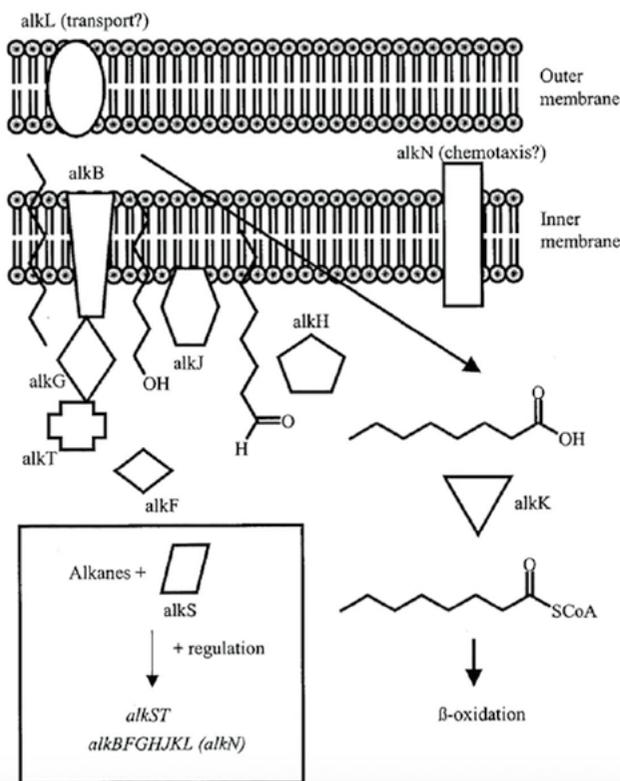


Figura 1. Transformación de alcanos en acetil coenzima-A, mediada por el operón *alkBFGHJKL* y el operón *alkST* que decodifica la rubredoxina reductasa [tomado de (Van Hamme *et al.*, 2003)].

transformar alcanos en acetil coenzima-A (Van Hamme *et al.*, 2003). Se ha reportado que *Pseudomonas putida*, *Burkholderia cepacia* y *Acinetobacter sp.* poseen operones con capacidad degradadora del tipo *alk* (Magot *et al.*, 2000; Van Hamme *et al.*, 2003). En *Acinetobacter sp.* se ha descrito una vía donde una dioxigenasa convierte un alcano a aldehídos a través de *n*-alquilhidroperoxidasa sin un alcohol intermedio. Esta dioxigenasa requiere oxígeno molecular para catalizar la oxidación de los *n*-alcanos (C_{10} a C_{30}) y alquenos (C_{12} a C_{20}) sin la producción de radicales (Van Hamme *et al.*, 2003). Uno de los principales factores que limita la biodegradación de un hidrocarburo es su biodisponibilidad (Barathi and Vasudevan, 2001).

Los hidrocarburos difieren en su susceptibilidad para ser atacados por un microorganismo en el siguiente orden: alcanos lineales, alcanos ramificados, aromáticos pequeños, cicloalcanos y con mayor dificultad los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs, por sus siglas en inglés) (Das and Chandran, 2011), y los factores que afectan la efectividad de la biodegradación de hidrocarburos son las propiedades fisicoquímicas del contaminante, como la temperatura, debido a que afecta directamente la química de los contaminantes, su solubilidad, fisiolo-

gía y diversidad de la microflora, presencia de nutrientes, tales como nitrógeno, fósforo y ocasionalmente hierro (Atlas M. Ronald, 1981; Das and Chandran, 2011; Van Hamme *et al.*, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Adaptación de consorcio microbiano

El medio mínimo (1.2 ml L^{-1} FeCl_2 0.1%, KH_2PO_4 0.5 g L^{-1} , MgCl_2 0.4 g L^{-1} , NaCl 0.4 g L^{-1} , NH_4Cl 0.4 g L^{-1} , CaCl_2 0.05 g L^{-1} , 1 ml L^{-1} solución elementos traza: ZnSO_4 10 mg L^{-1} , MnCl_2 3.0 mg L^{-1} , H_3BO_3 30 mg L^{-1} , CoCl_2 20 mg L^{-1} , CuCl_2 1.0 mg L^{-1} , NiCl_2 2.0 mg L^{-1} , Na_2MoO_4 3.0 mg L^{-1} ; todos los reactivos grado analítico proporcionados por Fermont) fue inoculado con una relación de 1 g de soporte (conteniendo el microbioma) por cada 100 mL de solución. Se mantuvo en agitación a 200 rpm por 3 h a 30 °C para ser filtrado posteriormente. Para la adaptación del microbioma se tomaron tres volúmenes de 9 mL de la solución de medio mínimo inoculadas. Se agregaron 1 mL de diesel y 1 mL de petróleo de 30 °API, manteniéndose en agitación a 200 rpm a 30 °C por 36 h. Se realizó el conteo en placa de las soluciones obtenidas.

Contaminación de muestras de agua y montaje de reactores y métodos analíticos

Las muestras de agua contaminada fueron preparadas tomando nueve volúmenes de medio mínimo por un volumen del hidrocarburo (diesel o petróleo). Los sistemas se mantuvieron en agitación por 24 h a 200 rpm a 30 °C. Se utilizaron tres reactores (Figura 2), con un volumen de 600 mL. Se mantuvieron condiciones aerobias, proporcionando un flujo de aire de 60 L h^{-1} y una

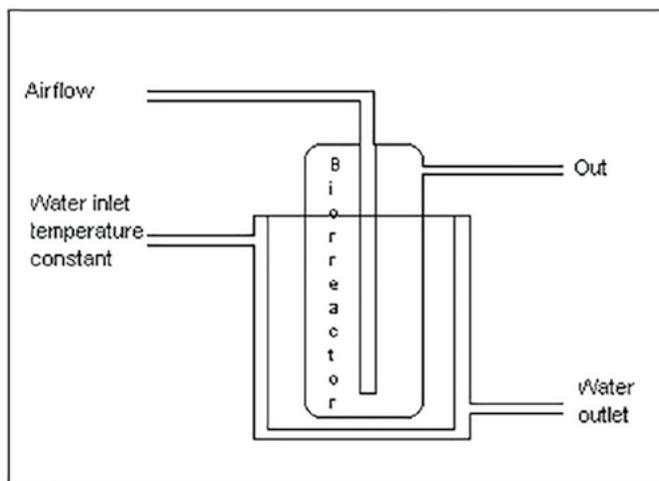


Figura 2. Biorreactor utilizado en el estudio de degradación de hidrocarburos por el microbioma agrícola.

temperatura constante de 30 °C. Los reactores fueron cargados con 450 ml de muestra contaminada, dos con muestra contaminada con petróleo y dos con muestra contaminada con diesel. Se adicionaron 50 ml del inóculo correspondiente a un reactor conteniendo muestra contaminada con diesel y a otro con muestra contaminada con petróleo. Los dos restantes se completaron con solución de medio mínimo para tomarse como blancos. Las condiciones se mantuvieron por seis días, tomando muestras de 2 ml cada 12 h.

Análisis por espectrofotometría de UV-vis, IR-ATR y cromatografía de gases

Debido a que las técnicas espectrofotométricas de UV-vis e IR-ATR no son destructivas, las muestras tomadas fueron medidas primero por estas dos técnicas. Se utilizó un espectrofotómetro de ultravioleta-visible (Ocean Optics Serie Jaz, USA) y uno de infrarrojo con reflexión total atenuada (Perkin Elmer Spectrum-100, USA). Se utilizó 0.5 ml de CCl₄ por cada 2 ml de muestra para la extracción. La fase orgánica obtenida fue filtrada a través de fibra de vidrio con Na₂SO₄ anhidro (Fermont) para eliminar cualquier traza de agua presente. El ex-

tracto fue recibido en un vial ambar de 2 ml y sometido al análisis de cromatografía de gases. Se utilizó una jeringa de 10 μ l para inyectar 1 μ l de muestra en un cromatógrafo de gases (GC Clarus 580 Perkin Elmer Inc, USA) equipado con un detector de ionización de flama (FID). Se usó una columna capilar Elite-MS (30 m x D.I. 0.25 mm x espesor de película 0.25 μ m). El gas de arrastre fue nitrógeno con un flujo de 1 ml min⁻¹. La temperatura del inyector fue de 350 °C. Se usó una rampa de temperatura (50 °C (1 min), Δ 15 °C hasta 180 °C, Δ 7 °C hasta 230 °C, Δ 30 °C hasta 380 °C) para lograr la separación de los hidrocarburos en la columna. La cuantificación se realizó con una curva de referencia, usando diesel comercial en CCl₄. Para el recuento de microorganismo se utilizaron placas 3MTM PetrifilmTM para el recuento de aerobios, de acuerdo con la metodología marcada por el fabricante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la degradación de los hidrocarburos a través de uv-visible se muestran en la Figura 3, y la disminución de la concentración del sustrato hidrocarbonado se muestra en la Figura 4.

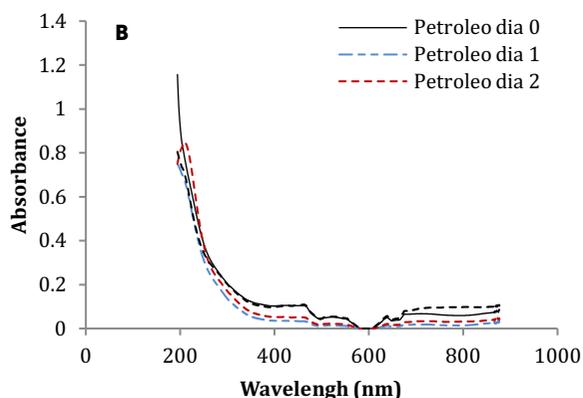
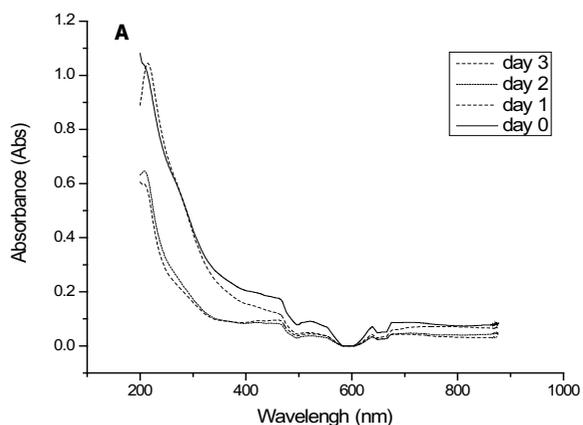


Figura 3. Decremento de la concentración de compuestos aromáticos en la muestra de agua contaminada con A: diesel y B: petróleo a través de espectrofotometría UV-vis.

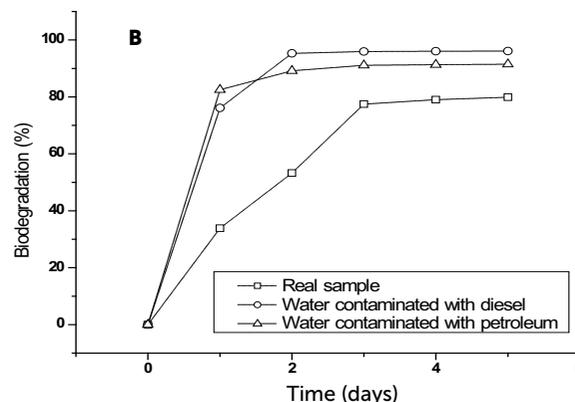
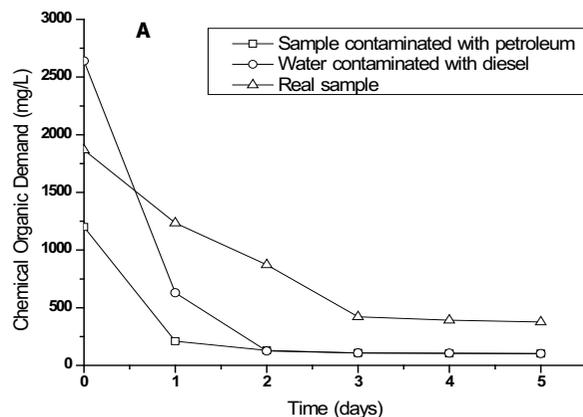


Figura 4. A: Disminución de DQO y B: porcentaje de biodegradación.

En el tercer día de tratamiento se alcanzó una degradación por el consorcio microbiano de 96% para el agua contaminada con diesel y 91.5% para la contaminada con petróleo. Los cromatogramas obtenidos se muestran en las figuras 5 y 6. La degradación de cada fracción obedece a su complejidad y contenido de carbonos. Las fracciones degradadas más rápidamente fueron con menor número de carbonos. Por otra parte, las que tuvieron la mayor cantidad persistieron durante más tiempo. Los microorganismos que conforman el consorcio microbiano utilizado degradaron primero los componentes presentes de menor complejidad y menor peso molecular. Los compuestos remanentes después del tratamiento tienen menos de 16 carbonos, ya que la degradación microbiana fragmenta los hidrocarburos de mayor peso molecular en moléculas más pequeñas, como se muestra en la Figura 7 (Tahhan *et al.*, 2011).

En los espectros infrarrojos que se muestran en la Figura 8 se observan los picos característicos del estiramiento C-H propio de los hidrocarburos presentes en las muestras de agua contaminada en la región de 2950-3000

cm^{-1} . Al final del tercer día de tratamiento los picos no se detectan, lo que confirma la alta eficiencia obtenida con el consorcio utilizado.

La ecuación que relaciona el número de células microbianas con la masa de peso seco es (D'adamo *et al.*, 1984):

$$W=7\times 10^{-6} UFC+3382.6$$

Donde: W [=]mg/L; UFC [=]n° de microorganismos/mL

El tratamiento de los datos obtenidos se realizó a través del modelo propuesto por Monod (Monod 1949):

$$r_g = \frac{\mu_{m\acute{a}x} C_s C_c}{K_s + C_s}$$

Los parámetros $\mu_{m\acute{a}x}$ y K_s se obtuvieron a través de la forma de Hanes-Woolf de la ecuación de Monod (Bacosa *et al.*, 2011) (Cuadro 1), y los perfiles de degradación y crecimiento microbiano a una temperatura de 30 °C se muestran en la Figura 9 para el diesel y el petróleo.

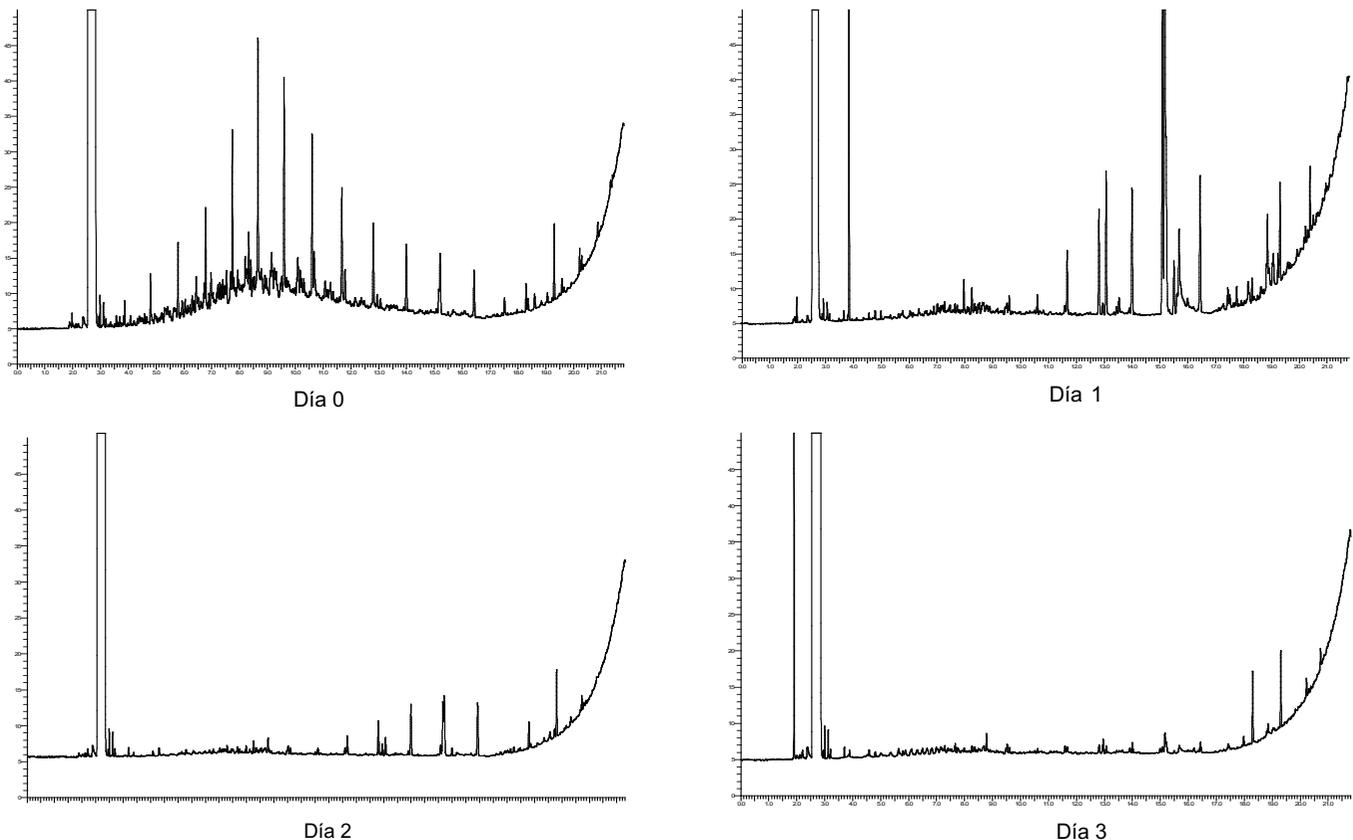


Figura 5. Cromatogramas obtenidos durante la biodegradación de las muestras de agua contaminadas con diesel.

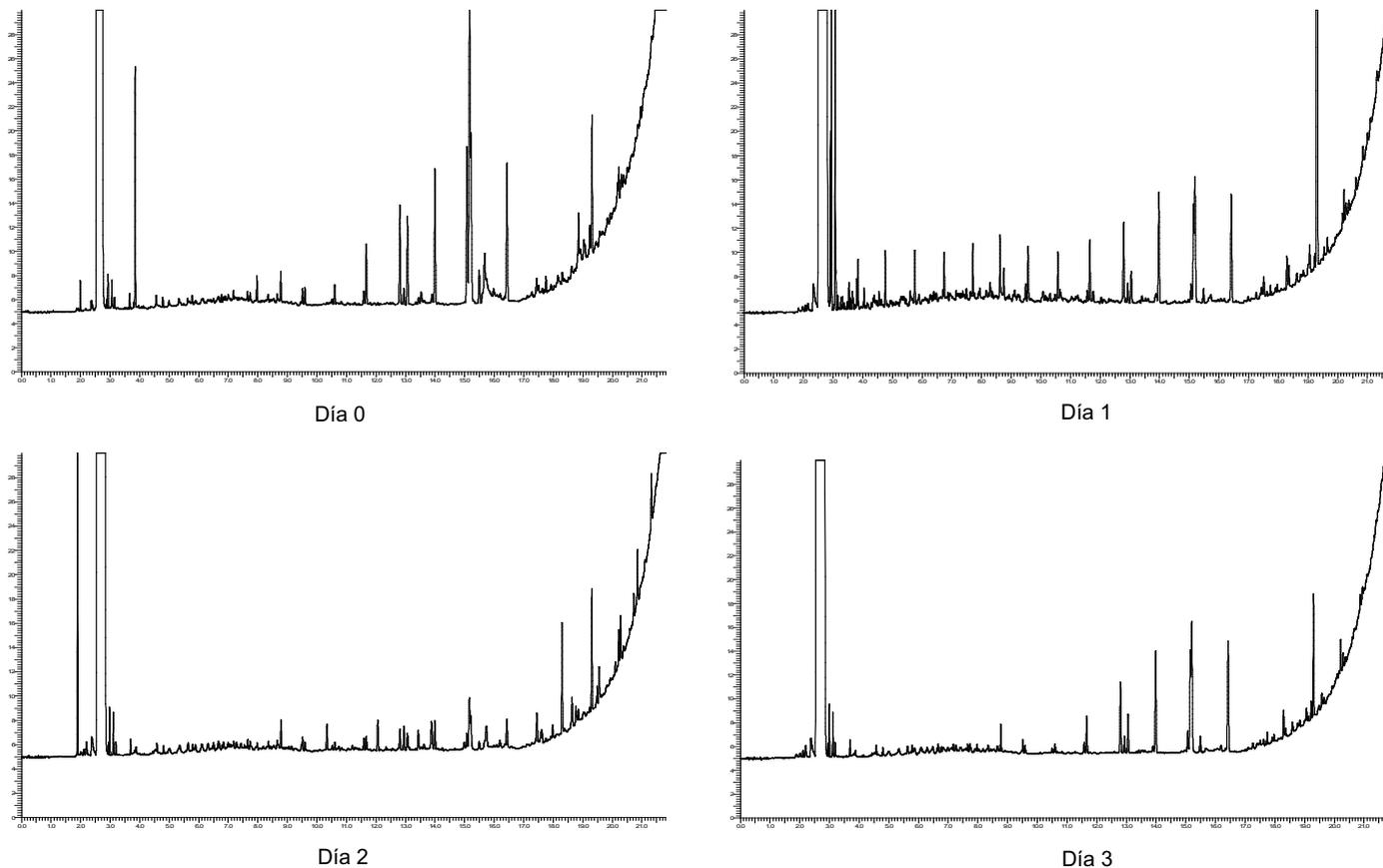


Figura 6. Cromatogramas obtenidos durante la biodegradación de las muestras de agua contaminadas con petróleo.

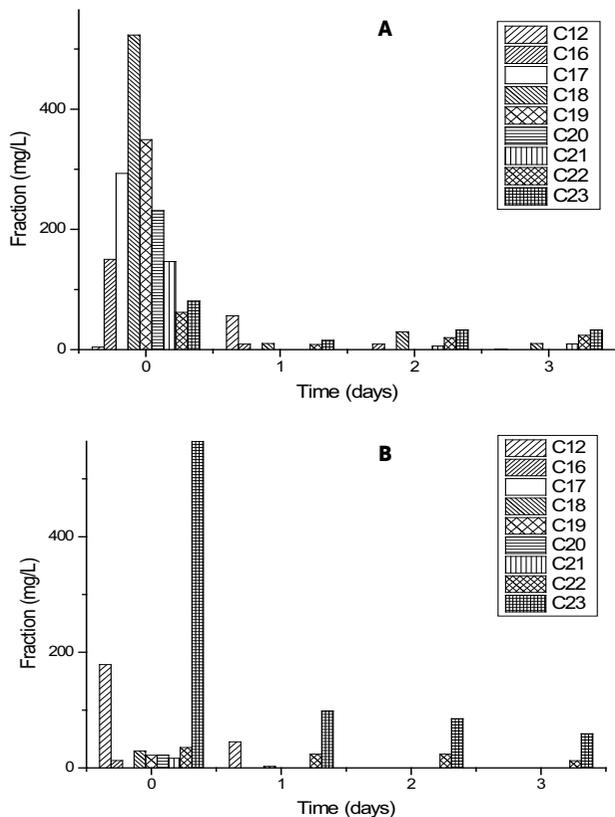


Figura 7. Biodegradación de hidrocarburos en agua contaminada. A: con diesel y B: con petróleo.

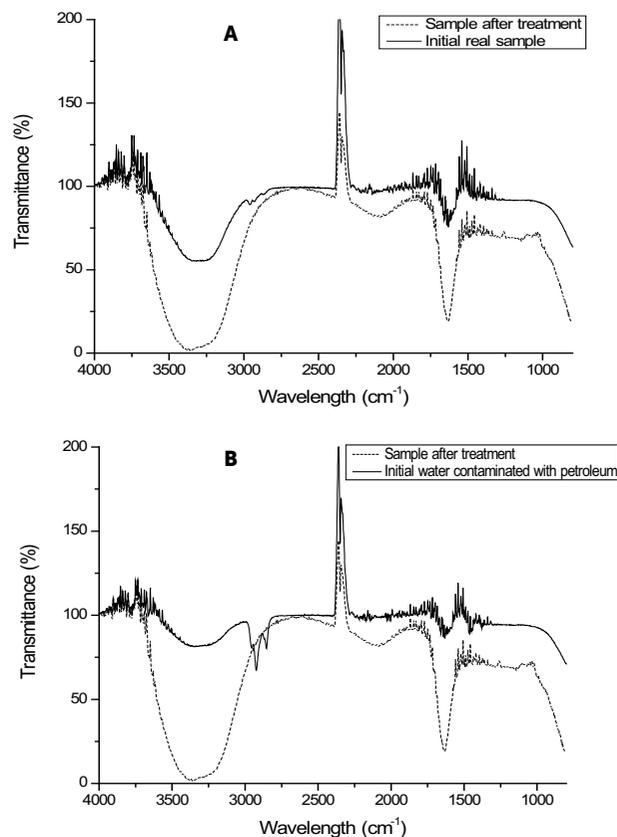


Figura 8. Espectros de infrarrojo en el inicio y final del tratamiento de muestras de agua contaminada. A: con diesel y B: con petróleo.

Cuadro 1. Valores de los parámetros $\mu_{m\acute{a}x}$ y K_s para el agua con petr3leo y con diesel.						
	Agua contaminada con petr3leo			Agua contaminada con diesel		
Temperatura	20 3C	30 3C	40 3C	20 3C	30 3C	40 3C
$\mu_{m\acute{a}x}$ [dia ⁻¹]	1.1976	1.6085	3.7693	0.3098	0.4841	0.6748
K_s [mg/L]	815.904	1096.493	2555.107	109.468	99.951	78.946
R^2	0.95	0.94	0.93	0.93	0.86	0.90

Cuadro 2. Balances considerados en el biorreactor en fase libre.	
Balace	Ecuaci3n
C3lulas	$\frac{dC_c}{dt} = r_g - r_d$
Sustrato	$\frac{dC_s}{dt} = Y_{s/c}(-r_g) - mC_c$
Producto	$V \frac{dC_p}{dt} = r_p V = Y_{p/s}(-r_s)V$

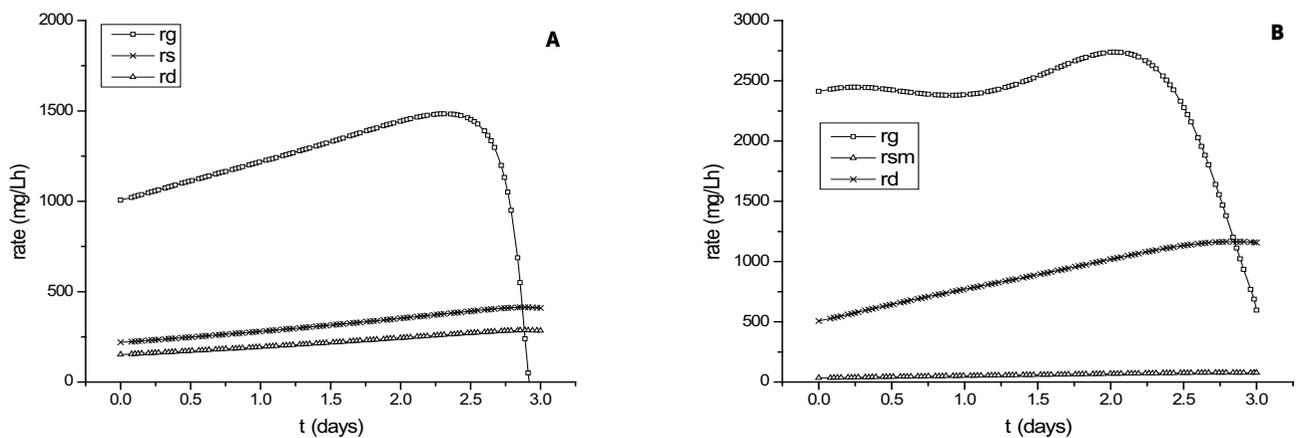


Figura 9. Perfil de velocidades obtenido con el modelo de Monod para de biodegradaci3n a 30 3C. A: diesel y B: petr3leo.

Los balances propuestos para realizar el modelado de las ecuaciones se proporcionan en el Cuadro 2, donde se consider3 el factor de muerte y el de mantenimiento celular.

Los hidrocarburos remanentes despu3s de tratamiento podr3an degradarse totalmente si las condiciones de desarrollo microbiano 3ptimas se mantienen durante un mayor tiempo.

CONCLUSIONES

El tiempo para alcanzar un grado de degradaci3n de contaminantes mayor a 90% fue de tres d3as, observando que existe un intervalo 3ptimo de temperatura de operaci3n

entre 30 3C y 40 3C. Es posible reducir la contaminaci3n por hidrocarburos del agua a valores que ya no representen toxicidad al medio ambiente. La cin3tica de Monod, para este consorcio, describe adecuadamente el crecimiento bacteriano, no as3 la utilizaci3n de sustrato ni la generaci3n de producto; esto debido a que la medida del sustrato se realiz3 a trav3s de DQO, el cual es capaz de oxidar las c3lulas microbianas, lo cual puede incrementar el valor del contaminante presente. La tasa de mantenimiento se reduce realizando el aporte de energ3a al sustrato, por lo que las actividades metab3licas dentro de la c3lula microbiana se enfocan en la degradaci3n del mismo. Esto mejora el rendimiento general del consorcio. Se obtuvieron eficiencias de biodegradaci3n de 96% para el diesel y de 91.5% para el

petróleo (medidos a través de la reducción de DQO), y de 95.8% para el diesel y 93.8% para petróleo (medidos como hidrocarburos totales del petróleo), con una adaptación previa del consorcio bacteriano. En diferente sustrato, es decir, en diesel y petróleo, la velocidad máxima de crecimiento microbiano a la misma temperatura fue el cuadrado de su correspondiente valor; es decir, para el petróleo el valor fue n^2 veces el valor del diesel.

LITERATURA CITADA

- Atlas M.R. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180–209.
- Bacosa H.P., Suto K., Inoue C. 2011. Preferential utilization of petroleum oil hydrocarbon components by microbial consortia reflects degradation pattern in aliphatic–aromatic hydrocarbon binary mixtures. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1109–1117. doi:10.1007/s11274-010-0557-6
- Barathi S., Vasudevan N., 2001. Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* isolated from a petroleum-contaminated soil. *Environ. Int.* 26, 413–416.
- Caliman F.A., Robu B.M., Smaranda C., Pavel V.L., Gavrilescu M., 2011. Soil and groundwater cleanup: benefits and limits of emerging technologies. *Clean Technol. Environ. Policy* 13, 241–268. doi:10.1007/s10098-010-0319-z
- CNH. 2014. Comisión Nacional de Hidrocarburos.
- Cummings S.P. (Ed.). 2010. Bioremediation, *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ.
- D'adamo P.D., Rozich, A.F., Gaudy, A.F., 1984. Analysis of growth data with inhibitory carbon sources. *Biotechnol. Bioeng.* 26, 397–402.
- Das N., Chandran P., 2011. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnol. Res. Int.* 2011, 1–13. doi:10.4061/2011/941810
- Daunert S., Barrett G., Feliciano J.S., Shetty R.S., Shrestha S., Smith-Spencer W. 2000. Genetically Engineered Whole-Cell Sensing Systems: Coupling Biological Recognition with Reporter Genes. *Chem. Rev.* 100, 2705–2738. doi:10.1021/cr990115p
- Glick B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* 28, 367–374. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.02.001
- González H.H.R., Bustillos L.G.T., Fernández I.M., Cortes J. de J.B., Moroyoqui P.G., 2010. Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Quím. Viva* 9, 120–145.
- Huaiquilaf B.C. 2008. Contaminación de aguas subterráneas por hidrocarburos líquidos livianos en fase no acuosa. *Cienc. Ahora*.
- Kaplan C.W., Kitts C.L. 2004. Bacterial Succession in a Petroleum Land Treatment Unit. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 1777–1786. doi:10.1128/AEM.70.3.1777-1786.2004
- Kurusu F. 2008. 11. Bioremediation of Groundwater and Soil in Urban Areas. *Groundw. Manag. Asian Cities Technol. Policy Sustain.* 2, 207.
- Magot M., Ollivier B., Patel B.K. 2000. Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie Van Leeuwenhoek* 77, 103–116.
- Patel V., Cheturvedula S., Madamwar D. 2012. Phenanthrene degradation by *Pseudoxanthomonas* sp. DMVP2 isolated from hydrocarbon contaminated sediment of Amlakhadi canal, Gujarat, India. *J. Hazard. Mater.* 201-202, 43–51. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.11.002
- Singh A., Singh B., Ward O. 2012. Potential applications of bioprocess technology in petroleum industry. *Biodegradation* 23, 865–880. doi:10.1007/s10532-012-9577-2
- Tahhan R.A., Ammari T.G., Goussous S.J., Al-Shdaifat H.I. 2011. Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 65, 130–134. doi:10.1016/j.ibiod.2010.09.007
- Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P. 2003. Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 503–549. doi:10.1128/MMBR.67.4.503-549.2003



IMPACTO DE LA MINERÍA SOBRE LOS RECURSOS NATURALES

Carrillo-González, R.^{1*}; González-Chávez, M.C.A.¹

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

*Autor de Correspondencia: crogelio@colpos.mx

Una de las actividades económicas con mayor tradición en México es la minería de materiales metálicos, la cual ha dejado incomparables beneficios desde la gestación del país (México) actual. La minería contribuye con más de 8% del producto interno bruto. De acuerdo con el Servicio Geológico Mexicano (2016), operan 293 compañías mineras en el país. Sin embargo, al considerar todas sus fases, desde la exploración, prospección y extracción, hasta el cierre de las minas, la actividad tiene diversos impactos ambientales, y el más evidente es en el paisaje, el cual incluye modificaciones físicas (visuales), en recursos hídricos (Lavandaio, 2008) y en la biota (Figura 1). Esos efectos deben documentarse para buscar propuestas de prevención y mitigación acordes a las condiciones socioeconómicas y ambientales de cada zona.

Los cambios físicos se relacionan con la construcción de infraestructura: caminos, puentes, acueductos, líneas de comunicación, edificios y viviendas para los trabajadores, la apertura de labores de minería a cielo abierto o subterráneos, y la construcción de depósitos para residuos.

Los cambios en la biota que se pueden mencionar son: la deforestación y destrucción de los recursos bióticos durante el descapote y operación de las minas (Antwi *et al.*, 2008) y construcción de caminos. Una revisión de registros históricos del impacto en diversas áreas del país permitió a Studnicki-Gizbert *et al.* (2010) afirmar que el inicio de la minería a nivel industrial devastó la vegetación en lugares de México, tales como Taxco, Guerrero; Ixmiquilpan, Hidalgo (Cahuich, 1997); Parral, Chihuahua; Zacatecas; San Luis Potosí y Durango, pues para hacer la minería se demandaba mucha madera para construir, asegurar y recubrir los túneles. También se requirió madera y carbón vegetal como combustible para la fundición. Gran número de plantas de mezquite (*Prosopis sp.*), encino (*Quercus sp.*) y pino (*Pinus sp.*) fueron cortados, convirtiendo cientos de miles de hectáreas de bosques en cerros desnudos. La reforestación favoreció la destrucción o fragmentación de hábitats, con su consecuente efecto en las poblaciones y biodiversidad (Fahrig, 2003; Antwi *et al.*, 2008). En este tema se debe considerar el impacto de la construcción de caminos. Considerando la posición geomorfológica de las minas y áreas de beneficiado, en la cuenca, Palmer *et al.* (2010) dice que la práctica de la minería puede tener efectos en los

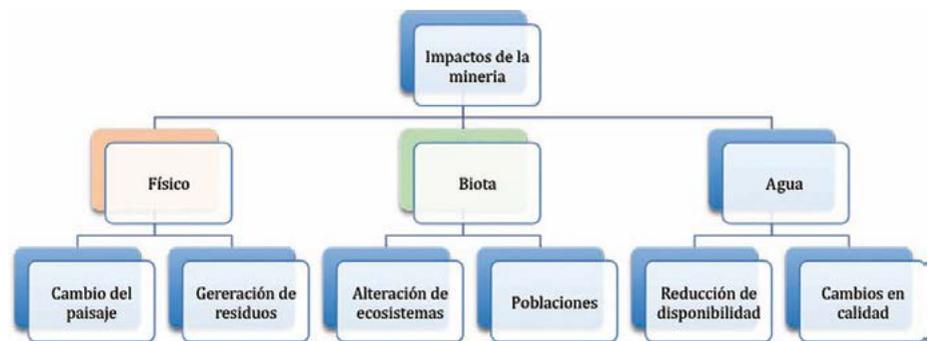


Figura 1. Efectos de la minería en el entorno.

recursos naturales en la parte baja de las cuencas. La minería requiere grandes volúmenes de agua para operar. Aunque generalmente se recupera y reusa, en zonas con baja disponibilidad, la capa freática del lugar se abate y se pueden agotar los pozos de agua y manantiales. También es frecuente que el agua se contamine por el drenaje ácido (Huang, 1998), causando los siguientes efectos: variación en el pH, conductividad eléctrica y en el contenido de iones disueltos. El incremento del contenido de elementos, como el azufre, tiene reacción a mediano plazo. Reducción en la biodiversidad por efecto tóxico de los materiales vertidos a las corrientes, como metales y metaloides (elementos potencialmente tóxicos); EPT o por modificación del pH del agua, la proporción de nitrógeno, fósforo y azufre (Ty Lindberg *et al.*, 2011), la relación C:N y la velocidad de descomposición de materiales orgánicos (Lee y Bukaveckas, 2002). Alteración de la microbiota del agua y su función en los ciclos de los elementos como el hierro, manganeso o selenio. Acumulación excesiva de elementos en la biota, con sus respectivos efectos tóxicos. Incremento de riesgo de entrada en las cadenas alimenticias de las especies (Limpong *et al.*, 2003). Concentraciones anormales de EPT en el agua (Figura 2), tanto superficial como subterránea (Hudson-Edwards, 1997; Armienta *et al.*, 1997).

La población de Zimapán, Hidalgo, México, ha consumido agua con altas concentraciones de arsénico durante varias décadas; por ello, la CNA y el Instituto de Geofísica (UNAM) evaluaron la contaminación en 55 pozos de la zona y encontraron que todos contienen arsénico en concentraciones altas (Armienta *et al.*, 1997). Este estudio demostró que la contaminación

del agua subterránea en la zona es tanto natural como inducida debido a los yacimientos minerales existentes en el subsuelo que contienen plomo, zinc, cobre y arsénico. La contaminación inducida la propician los residuos de mina con alto contenido de arsénico que se ha depositado cerca de las corrientes superficiales. El impacto en el suelo incluye el incremento en la concentración de elementos tóxicos y la acidificación por la

formación de lixiviados ácidos, lo que puede modificar el desarrollo vegetal (Berglund *et al.*, 2004). El uso de sustancias químicas en la minería tiene también efectos; por ejemplo, durante la extracción de minerales o beneficiado de los mismos, algunos de los procesos, como cianuración y amalgación, tienen efectos sobre los organismos. Cuando se usa el método de lixiviación para recuperación de metales se deben considerar medidas de mitigación de impacto en caso de fugas de las soluciones ácidas (Lavandaio, 2008) para evitar la contaminación del suelo o el agua. La dispersión de contaminantes se ha documentado en sitios con altos regímenes hídricos (Wong *et al.*, 1999, Kovac *et al.*, 2006) por efecto del viento (Stovern *et al.*, 2014) y por accidentes, debido a la inestabilidad de los depósitos (Grimalt *et al.*, 1999). Sin embargo, los procesos en zonas áridas y semiáridas se han documentado poco. Existe una multitud de emisiones por fuentes antropogénicas al ambiente; en estos casos la industria minera (Chen *et al.*, 2014) y de la fundición son las principales generadoras. Al intemperizarse y formar ácidos, los residuos de la minería pueden reaccionar a su vez con otros minerales expuestos e inducir la oxidación. Se generan así descargas de material tóxico ácido que puede permanecer activo durante cientos o incluso miles de años y tienen profundo efecto en el

agua (Hudson-Edwards, 1997); también, pueden usarse imprudentemente, aumentando el riesgo (Figura 3).

A pesar de todos estos problemas, las áreas con depósitos de residuos de minería y las minas abandonadas son sitios que una vez estabilizados y remediados tienen uso potencial sostenible; por ejemplo, sitios de recreación y esparcimiento (Figura 4) o plaza

comerciales. Tras un proceso exitoso de remediación es posible que se recuperen los servicios ecosistémicos que ofrece un suelo bien manejado (Berglund *et al.*, 2004, Levin y Carson, 2016). Con base en esta idea, la información que se presentó en los apartados anteriores, se fundamentó el uso de la **fitorremediación como tecnología de bajo costo, amigable con el ambiente y técnicamente factible.**



Figura 2. Pozo contaminado con elementos potencialmente tóxicos (metales pesados y arsénico).

AGRADECIMIENTO

Este trabajo forma parte del proyecto CONACYT PD-CAPN-2013-215241.

LITERATURA CITADA

- Ata A., Koldas S. 2006. Acid mine drainage (AMD): Causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production* doi:10.1016/j.jclepro.2004.09.006.
- Armienta M.A., Rodríguez R., Aguayo A., Cenicerros N., Villaseñor G., Cruz O. 1997. Arsenic contamination of groundwater at Zimapán, México. *Hidrology Journal* 5: 39-46.
- Christer B., Johansson T. 2004. Jamaican deforestation and bauxite mining-the role of negotiations for sustainable resource use. *Minerals & Energy - Raw Materials Report* 19: 214. doi:10.1080/14041040310034383.
- Cahuich C.M.B. 1997. Apuntes para una historia regional: las parroquias de Cardonal y Chilcutla finales de la Colonia y del siglo XIX, en *Dimensión Antropológica*, 9: 157-184. Disponible en: <http://www.dimensionantropologica.inah.gob.mx/?p=1404>.
- Chen T., Lei C., Yan B., Xiao X. 2014. Hydrometallurgy metal recovery from the copper sulfide tailing with leaching and fractional precipitation technology. *Hydrometallurgy* 147-148: 178-182. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2014.05.018>
- Fahrig L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 487-515. doi:10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419.
- Grimalt J.O., Ferrer M.L., MacPherson E. 1999. The mine tailing accident in Aznalcollar. *Science of the Total Environment* 242: 3-11. doi:10.1016/S0048-9697(99)00372-1.
- Huang G. 1998. Ecological environment of ground water in the uranium mining districts of China; acid mine drainage by *in situ* acidic leaching. *Huadong Dizhi Xueyuan Xuebao = Journal of the East China College of Geology* 21: 7-13.
- Hudson-Edwards K., Macklin M., Taylor M. 1997. Historic metal mining inputs to Tees river sediment. *Science of the Total Environment* 194-195: 437-45. doi:10.1016/S0048-9697(96)05381-8.
- Kovács E., Dubbin W.E., Tamás J. 2006. Influence of hydrology on heavy metals speciation and mobility in a Pb-Zn mine tailing. *Environmental Pollution* 141: 310-20. doi:10.1016/j.envpol.2005.08.043.
- Lavandaio E. 2008. *Conozcamos más sobre minería*. Serie Publicaciones 168. Instituto de Geología y Recursos Minerales. SEGEMAR. Buenos Aires, Argentina.
- Larondelle N., Haase D. 2012. Valuing post-mining landscapes using an ecosystem services approach-An example from



Figura 3. Residuo de mina oxidado (rico en metales tóxicos) usado para emparejar caminos. Una forma no recomendada que aumenta la exposición a contaminantes.

Germany. *Ecological Indicators* 18: 567-74. doi:10.1016/j.ecolind.2012.01.008.

- Le J.T., Levin L.A., Carson R.T. 2016. Incorporating ecosystem services into environmental management of deep-seabed mining. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* doi:10.1016/j.dsr2.2016.08.007.
- Palmer M.A., Bernhard E.S., Schlesinger W.H., Eshleman K.N., Fofoula-Georgion E., Hendryx M.S., Lemly A.D., Linkens G.E., Loucks O.L., Power M.E., White P.S., Wilcock P.R. 2010. Mountaintop mining consequences. *Policyforum USA*.
- Servicio Geológico Mexicano. 2016. Companies with mining projects in Mexico. Gobierno Federal. México. <http://portalweb.sgm.gob.mx/economia/en/mexico-mining/mining-companies.html>.
- Stovern, M., Betterton E.A., Saez E.A., Felix-Villar O.I., Rine K.P., Russell M.R., King M. 2014. Modeling the emission, transport and deposition of contaminated dust from a mine tailing site. *Reviews on Environmental Health* 29: 91-94. doi:10.1515/reveh-2014-0023.
- Studnicki-Gizbert D., Schechter D. 2010. The environmental dynamics of a colonial fuel-rush: silver mining and deforestation in New Spain, 1522 to 1810. *Environmental History* doi:10.1093/envhis/emq007.
- Wong H.K.T., Gauthier A., Nriagu J.O. 1999. Dispersion and toxicity of metals from abandoned gold mine tailings at Goldenville, Nova Scotia, Canada. *Science of the Total Environment* 228: 35-47. doi:10.1016/S0048-9697(99)00021-2.



Figura 4. Depósitos de residuos de minas restaurados y convertidos en áreas de esparcimiento y recreación.