

EFFECTO BIORREMIADOR DE *Argemone subfusiformis* EN SUELOS CONTAMINADOS CON COBRE EN CONDICIONES DE LABORATORIO

EFFECT OF *Argemone subfusiformis* BIORREMIADOR COPPER IN CONTAMINATED SOILS UNDER LABORATORY CONDITIONS

Clark, Rodríguez-Dávila*, Santos, Padilla-Sagastegui**

Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. Perú.

Clarkrodriguez_5@hotmail.com*, padsag@yahoo.com**

RESUMEN

La extracción minera en el Perú se viene realizando desde el año 1600, provocando disturbios al medioambiente y generando suelos con limitaciones físicas, químicas y biológicas para el establecimiento de vegetación y riesgos a la salud, por la presencia de diversos metales pesados vertidos en diversos tipos de suelo; por lo expuesto se propuso evaluar el efecto biorremediador de *Argemone subfusiformis* en suelos contaminados con cobre en condiciones de laboratorio. Se utilizó el diseño de estímulo creciente, determinando diferencias significativas entre tratamientos y factores experimentales, lo que nos permite concluir que la concentración de cobre encontrado en *A. subfusiformis* varía a medida que la concentración del cobre aumenta por tratamiento; y que la especie puede utilizarse como biorremediador de suelos contaminados.

Palabras claves: Biorremediación, cobre, *Argemone subfusiformis*.

ABSTRACT

The mining in Peru has been held since 1600, causing disturbances to the environment and generating soils with physical, chemical and biological for the establishment of vegetation and health risks due to the presence of various heavy metals dumped in various types land, for the foregoing was to evaluate the effect of *Argemone* bioremediator *subfusiformis* in copper-contaminated soils under laboratory conditions. We used increasing stimulus design, determining significant differences between treatments and experimental factors, allowing us to conclude that the copper concentration found in *A. subfusiformis* varies as the copper concentration increases by treatment, and the species may be used as bioremediator of contaminated soils.

Key words: Bioremediation, copper, *Argemone subfusiformis*.

Recibido: 9 Diciembre de 2012

Aceptado: 1 de Abril de 2013

INTRODUCCIÓN

La minería en su conjunto ha producido a través del tiempo contaminantes gaseosos, líquidos y sólidos, que de una forma u otra se han depositado en el suelo, como partículas sedimentadas o traídas por las aguas de lluvia, por el vertido directo de los productos líquidos de la actividad minera y metalúrgica, o por la infiltración de productos de lixiviación del entorno minero, o por la disposición de elementos mineros sobre el suelo (Gonzales & Argumedo, 2009).

Perú ha sido siempre uno de los principales productores de minerales; entre los que destaca el cobre, molibdeno, plata y oro, entre otros, constituyendo una actividad de gran importancia económica; sin embargo, la minería siempre ha estado asociada a la problemática ambiental, por la descarga de metales pesados que causan daño a los ecosistemas acuáticos y terrestres, debido a la intensidad con que se viene realizando a través del tiempo en los ecosistemas naturales y agroecosistemas aledaños a los sitios específicos de producción y procesamiento industrial con una magnitud considerablemente alta; donde los metales pesados forman sustancias tóxicas para los seres vivos, provocando la pérdida de diversidad biológica, las

condiciones ecológicas y funcionalidad de las especies nativas de las zonas, generando reducción de la sostenibilidad del ecosistema, posibilitando la entrada de organismos y sustancias extrañas, como los metales pesados a la cadena trófica, promoviendo fenómenos de biomagnificación, con consecuencias directas para la salud humana (Bernal y col., 2007).

La contaminación por metales pesados de la biosfera aumentó considerablemente desde 1900 y planteó problemas de salud ambiental y humana en todo el mundo, que por su condición asimiladora, la mayoría de ellos no pueden ser eliminados del medioambiente mediante la transformación química o biológica (Sugey y col., 2005); sin embargo existen una serie de alternativas adecuadas para la remediación de vastas zonas afectadas por la actividad minera, las cuales han sido objeto de pocos estudios, entre las que destacan alternativas viables, como la utilización de procesos de asimilación con vegetales; los cuales están basadas en el uso de plantas metalófitas endémicas, que dan respuesta de resistencia a las condiciones adversas, entre las que destacan *Baccharis linearis*, *Polypogon viridis*, *Argemone subfusiformis*, *Plantago lanceolata*; así como las de uso agrícola *Lupinus albus*, *L. angustifolius*, *Helianthus annuus* entre otras (Gonzales & Argumedo, 2009).

Todas las plantas poseen un potencial para absorber una amplia variedad de metales del suelo pero la mayor parte de las plantas tienden solamente a absorber los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Existe una notable excepción de esta regla de un pequeño grupo de plantas que pueden tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, estas plantas reciben el nombre de hiperacumuladoras (Chen y col., 2001).

La fitorremediación está definida como el conjunto de técnicas que hace uso de especies vegetales para remover o dejar en formas inocuas contaminantes; por lo que se expresan en técnicas eficaces, como la fitoextracción que hace uso de especies "hiperacumuladoras", capaces de acumular grandes cantidades de metales pesados en su biomasa aérea a través de sus raíces junto con los nutrientes del suelo. Por otro lado, la fitoestabilización, hace uso de especies excluyentes; es decir que impiden el paso de contaminantes a su biomasa aérea, acumulándolos en sus raíces, ya sea absorbidos en sus tejidos o adheridos a su superficie, como es el caso de *Argemone subfusiformis*, que es una especie perenne, cuyos estudios permitió comprobar que el contaminante se mantiene continuamente estabilizado (Baker & Brooks, 1989); dando lugar a plantear como hipótesis que el principal requisito para que una planta sea útil para alguna técnica de fitorremediación es su condición de tolerante a altas concentraciones de metales (uno o varios al mismo tiempo), como es el caso de las metalofitas que suelen encontrarse en sitios metalíferos, y debido a causas naturales (cercañas de pórfidos) o por causas antrópicas (suelos afectados por fundiciones o depósitos de desechos mineros), han sufrido un proceso de adaptación forzada y selección de especies, que ha dado como resultado, que se tornen a una condición de resistentes y se mantengan en el lugar de expectativa para la investigación (Bratteler, 2006).

En este sentido, la principal motivación detrás del desarrollo de las tecnologías fitorremediadoras, es el potencial para la remediación de bajo costo, que se resume en cuatro tecnologías diferentes a base de especies vegetales, y cada uno que tiene un mecanismo diferente de acción orientada a la remediación de suelos contaminados con metales pesados y otros sedimentos derivados por el agua, donde se incluyen: rizofiltración, que implica el uso de plantas para limpiar diversos ambientes acuáticos; fitoestabilización, para estabilizar el suelo en lugar de limpiar el área contaminada; fitovolatilización, para extraer ciertos metales del suelo, y luego ponerlos en libertad en la atmósfera por volatilización, y fitoextracción, donde las plantas absorben los metales del suelo y trasladar a los brotes aprovechables donde se acumulan (Gonzales & Argumedo, 2009).

El cobre (Cu) es un microelemento esencial para el desarrollo vegetal al actuar como cofactor de muchas enzimas como la Cu/ZnSOD, Citocromo c oxidasa, amino oxidasa, lacasa, plastocianina y polifenol oxidasa, participando también en el transporte de electrones, la respiración mitocondrial, en respuestas a estrés oxidativo, el metabolismo de la pared celular, señalamiento transcripcional, fosforilación oxidativa y la movilización de hierro. Sin embargo, el

Cu en altas concentraciones puede interferir en numerosos procesos fisiológicos, afectando al crecimiento y desarrollo de la planta e incluso llevándola a la muerte (Vera, 2006).

Algunas especies vegetales que habitan suelos con alto contenido de cobre, ya sea producto de intervención humana o por fenómenos naturales, poseen la capacidad de tolerar el metal, o sea de sobrevivir y reproducirse bajo tales condiciones ambientales.

Dada las referencias se planteó analizar el efecto biorremediador de *Argemone subfusiformis* en suelos contaminados con cobre en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y METODOS

1. Material biológico:

Se utilizaron semillas de *A. subfusiformis* colectadas del campo experimental de ecología de la Universidad Nacional de Trujillo. El sustrato estuvo conformado por arena fina, limpiada por sucesivas lavadas (05) con agua destilada y repartidos en vasos descartables.

2. Tratamiento y manejo de las unidades experimentales:

Se utilizaron 15 vasos descartables, con 100g de sustrato cada uno. En cada recipiente se sembraron cinco semillas las cuales fueron humedecidas con agua de grifo cada dos días. Se diseñaron cinco tratamientos con tres repeticiones. Todo el sistema se adecuó en un ambiente iluminado con fluorescentes de luz blanca (40 watt).

A los 20 días y con longitud aproximada de ocho centímetros se observaron las raíces desarrolladas, se asumió que tenían la capacidad de absorber el cobre, entonces se procedió a iniciar la experiencia con 0 mgL⁻¹ (T1), 5 mgL⁻¹ (T2), 10 mgL⁻¹ (T3), 15 mgL⁻¹ (T4) y 20 mgL⁻¹ (T5) de cobre en solución y con riegos por cinco días más, tiempo a partir del cual se procedió a tomar las muestras para cuantificar la cantidad de cobre absorbido por *A. subfusiformis*.

3. Determinación de la concentración de cobre absorbido por *A. subfusiformis*

A los 25 días se procedió a retirar la planta del sustrato, separando raíz, hoja y suelo de cada tratamiento. Previa identificación de las muestras vegetales, se llevaron a la estufa por dos días y a la temperatura de 80° C. Las muestras de suelo fueron disueltas en 200 ml de agua destilada para su posterior análisis. Se determinó la presencia de cobre por el método de la espectrofotometría de absorción atómica con el analizador bioquímico emperor 168.

4. Análisis de datos:

Los datos obtenidos fueron organizados en tablas y figuras para el posterior análisis estadístico con modelo del análisis de varianza, utilizando el programa Statgraphics, cuya representación, se explica:

$$Y_{ijk} = \mu + A_{ijk} + B_{ijk} + C_{ijk} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk}: variación experimental en las concentraciones, el tiempo y la interacción entre las concentraciones y el tiempo.

μ: promedio poblacional

A_{ijk}: tratamientos, variando de 1 a 5

B_{ijk}: factores experimentales, variando de 1 a 3

C_{ijk}: repeticiones, variando de 1 a 3

E_{ijk}: error experimental

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan los valores promedios de concentración de cobre en cinco tratamientos y tres repeticiones. En los órganos vegetales y muestra de suelo la concentración de cobre va aumentando según aumente la concentración del tratamiento. Entre órganos vegetales las raíces acumulan más cobre.

En la Tabla 2, se muestra análisis de varianza de las concentraciones de cobre encontradas en hoja, raíz y suelo; encontrándose que existe diferencia significativa entre tratamientos y factores experimentales, confirmando que la concentración de cobre absorbido por *A. subfusiformis* varía a medida que aumenta su concentración por tratamiento aplicado.

En la Tabla 3 y Fig. 1, se muestra la comparación de grupos a través de sus promedios; para la cual, siguiendo la metodología de la Mínima Diferencia Significativa Honesta, con la probabilidad de error tipo P_{Ei} y 95% de confiabilidad, encontramos que todos los promedios son diferentes entre tratamientos y factores experimentales; es decir, que cada concentración del elemento químico, causa un efecto independiente, al ser absorbido de manera heterogénea, según su concentración e influye causando efecto en las partes de la planta y en el suelo.

Tabla 1. Concentración de cobre (mg/L) obtenidos en hoja, raíz y suelo, cultivado de *A. subfusiformis* en condición de laboratorio. Los datos son promedios de tres repeticiones.

Organo vegetal/suelo	T1		T2		T3		T4		T5	
	0 %*	mg/L	5 mg/L	%	10 mg/L	%	20 mg/L	%	30 mg/L	%
HOJA	0		0.083		0.008		1.6	0.16	1.533	
RAIZ	0.153	1.903	0.1903							
SUELO	0		0.21		0.021		2.1	0.21	3.083	
	0.308	4.000	0.4000							
	0		1.75				1.973		4.08	
	5.77									

*porcentaje sobre una base del peso seco.

Tabla 2. Analisis de varianza para las concentraciones de cobre encontradas en hojas y raíz de *Argemone subfusiformis*. También se analiza la muestra de suelo.

Fv	SC	GL	CM	FC	Ft
entre tratamientos	90,47	4	22,62	17,00	2,13*
entre factores experimentales	19,44	2	9,72	7,31	2,92
entre repeticiones	0,07	2	0,04	0,03	2,92
Error	47,79	36	1,33		
Total	157,77	44			

Leyenda: Fv = Factores de variación ; SC = Suma de cuadrados ; GL = Grado de libertad ; CM = Cuadrado medio ; FC = F calculado ; Ft = F tabulado ; * Significancia

Tabla 3. Prueba de significación de Mínima Diferencia Significativa Honesta $D=0,34$ con 95% de confiabilidad.

	promedio	Significancia
Tratamientos	T1(0mg)	0
	T2(5mg)	0.68
	T3(10mg)	1.89
	T4(20mg)	2.9
	T5(30mg)	3.89
Factores experimentales	hoja	1.024
	raíz	1.878
	suelo	2.715

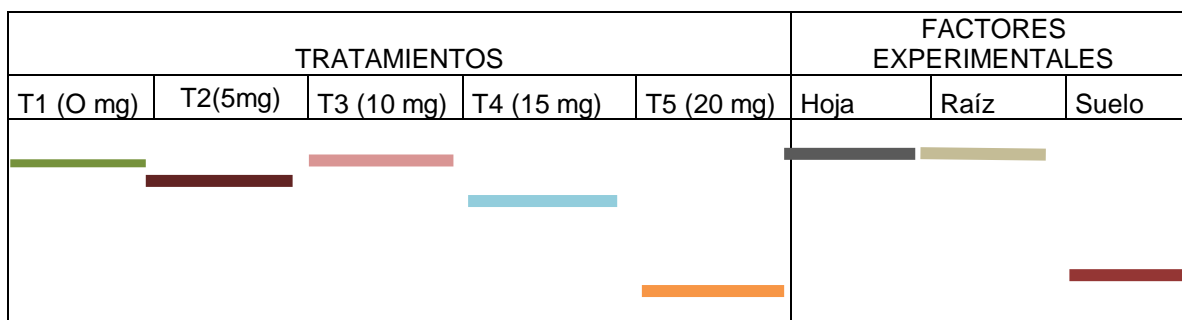


Fig. 1. Prueba de la mínima diferencia significativa honesta (Tukey) de las concentraciones de cobre encontrados en hojas, raíz y suelo de la especie *A. subfusiformis*.

DISCUSIÓN

Una definición propone que si una planta contiene más de 0.1% de Ni, Co, Cu, Cr y Pb o 1% del Zn en sus hojas sobre una base del peso seco, ésta puede ser llamada una “hiperacumuladora”, independientemente de la concentración del metal en el suelo (Robinson y col., 2003), para nuestros resultados, tabla 1, la raíz acumula más del 0.1% de cobre por lo cual podemos considerarla como hiperacumuladora.

El cobre es un metal que, al ser esencial para las plantas puede ser absorbido y acumulado en tejidos vegetales por sobre los niveles descritos como normales, proceso asociado a tolerancia metálica. Para que puede desarrollar esta capacidad *A. subfusiformis* la acumulación del metal, se debe a una alta compartimentación celular y mecanismos de detoxificación de especies reactivas de oxígeno que se formarían producto de niveles intracelulares aumentados de cobre.

Uno de los parámetros fisiológicos que se relacionan con la tolerancia metálica es el crecimiento radicular, que presenta inhibiciones drásticas en presencia de metales como cobre en solución. (Vera, 2006)

CONCLUSIONES

1. La concentración de cobre en *A. subfusiformis* varía a medida que el cobre aumenta la concentración por tratamiento.
2. La especie puede utilizarse como biorremediador de suelos contaminados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker, A. & R. Brooks.** 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*,; capítulo 1: 81-108
- Bernal, M.; R. Clemente & S. Vazquez.** 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar; *Ecosistemas*; Asociación Española de Ecología Terrestre; Alicante, España, vol. 16, núm. 2, pp. 1-14.
- Bratteler, M.** 2006.; Genetic architecture of traits associated with serpentine adaptation of *Silene vulgaris*. *Journal of Evolutionary Biology*; capítulo 19: 1149-1156.
- Chen, B.; P. Christie & L. Li.** 2001. A Modified Glass Bead Compartment Cultivation System for Studies on Nutrient and Trace Metal Uptake by Arbuscular Mycorrhiza. *Chemosphere* 42, 185-192.
- Gonzales, M. & D. Argumedo.** 2009. Tolerancia y solubilización de cobre por rizobacterias aisladas de sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos tierra latinoamericana; volumen 27, núm. 1, pp. 17-25 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.
- Robinson, B. H.; E. Lombi; F.J. Zhao & S.P. McGrath.** 2003. Uptake and Distribution of Nickel and other Metals in the Hyperaccumulator *Berkheya Coddii*. *New Phytologist* 158, 279–285.

- Sugey, L.; E. Margarita & J. Laura.** 2005. Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas; *Revista interamericana de Contaminación Ambiental*, vol. 21, pp. 91-100.
- Vera, J. G.** 2006. Estudio del efecto de cobre sobre poblaciones tolerantes y no tolerantes al metal de la especie *Mimulus luteus* var. *variegatus*.". Tesis para obtener licenciado en Bioquímica. Universidad de Santiago de Chile. Chile.