

EMPLEO DE POLÍMEROS NATURALES COMO ALTERNATIVA PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR METALES PESADOS

Omar E. CARTAYA¹, Inés REYNALDO¹, Carlos PENICHE² y María. L. GARRIDO³

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Carretera Tapaste San José km 3½, San José de las Lajas, P. Habana, Cuba. Teléfono: 86 1374; ocartaya@inca.edu.cu

² Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Zapata y G, El Vedado, Ciudad de la Habana, Cuba

³ Instituto de Materiales y Reactivos, Universidad de La Habana, Zapata y G, El Vedado, Ciudad de la Habana, Cuba

(Recibido diciembre 2009, aceptado octubre 2010)

Palabras clave: biorremediación, metales pesados, cobre, productos naturales, tomate, EAA

RESUMEN

En este trabajo se realizaron ensayos para estudiar la absorción y la distribución de metales pesados (Cu) en plántulas de tomates tratadas con polímeros naturales (oligogalacturónidos, Ogal) cultivadas en un medio con niveles tóxicos de cobre. También se analizaron los metales asimilables en el suelo con el fin de determinar el efecto residual y la movilidad de estos elementos. Los resultados evidenciaron que el empleo de la mezcla de oligogalacturónidos contrarresta el efecto de la toxicidad por metales pesados y produjo cambios en el patrón de acumulación de metales en las plantas tratadas con polímeros naturales, aun cuando la baja movilidad y la biodisponibilidad de los metales pesados se deben principalmente a las características del suelo.

Key words: bioremediation, heavy metals, cooper, natural products, tomatoes, EAA

ABSTRACT

In this work, several trials were performed to study the absorption and distribution of heavy metals (Cu) in tomato seedlings treated with natural polymers (oligogalacturonides, Ogal) growing in a medium with toxic levels of heavy metals. Soil available metals were also analyzed, with the purpose of determining their residual effect and mobility. Results proved that the use of oligogalacturonide mixture counteracts the toxicity effect of heavy metals and changed the pattern of metal accumulation in those plants treated with natural polymers, even though the low mobility and bioavailability of heavy metals are mainly due to soil characteristics.

INTRODUCCIÓN

Como resultado de la sociedad ampliamente industrializada de hoy se han contaminado grandes

áreas de tierra y agua con metales tóxicos, causando serios problemas ambientales y de salud. Los desechos industriales y mineros son la principal fuentes de contaminación ambiental por los metales pesados.

Durante estos años, se ha desarrollado una gama amplia de tecnologías de limpieza para eliminar los metales tóxicos del agua y del suelo.

Actualmente, las tecnologías de remediación ampliamente usadas son basadas en los procesos fisico-químicos, incluso la filtración, precipitación química, intercambio iónico, adsorción, electro-deposición, sistemas de membrana para el tratamiento de agua, o la excavación del sitio contaminado.

Estas tecnologías tienen una serie de problemas, como pueden ser su alto costo, naturaleza disociadora, e insuficiencia para eliminar los altos niveles de metales en la mayoría de los casos. Recientemente, se ha considerado que las tecnologías biológicas como la bio y la fitorremediación son posibles y promisorias soluciones a muchos problemas de contaminación, debido a sus ventajas como el costo, que no son disociadoras y sí de fácil mantenimiento. Aunque existen problemas con estos métodos, cuando los microorganismos no tienen la habilidad para degradar metales sino transformarlos, y la fitorremediación solo es eficaz para mantener los niveles de metales pesados en el tiempo (Barcelo 2003).

La alta disponibilidad de metales pesados induce en las plantas un estrés iónico, claramente distinguible del estrés salino. Los metales pesados no afectan el crecimiento de las plantas por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato, sino por su propia toxicidad. Un exceso de metales pesados o de sus quelatos solubles puede provocar una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas entre las que se encuentran la inhibición del crecimiento de la raíz (Cuevas y Walter 2004).

En los últimos años, como parte de los procesos de fitorremediación, se han utilizado reguladores del crecimiento de plantas tales como auxinas y citoquininas para disminuir la contaminación en las plantas por metales pesados, pues estos reguladores potencialmente incrementan la velocidad de crecimiento y la biomasa en plantas hiperacumuladoras (Navarro *et al.* 2007).

En este contexto, el uso de materiales quelatantes con gran potencial para la adsorción de iones metálicos se ha estudiado ampliamente a nivel de laboratorio, pero no ha sido aplicado en el campo. Algunos de los materiales quelatantes son los biopolímeros, que son compuestos de peso molecular alto (Calderón *et al.* 2007, Meng-Wei *et al.* 2004).

La mezcla de oligogalacturónidos (Ogal) (**Fig. 1**) con grado de polimerización entre 7 y 16, es un producto bioactivo obtenido a partir de la corteza de cítricos. Cada residuo de ácido galacturónico tiene un grupo carboxílico terminal lo que le permite la formación de complejos con los metales pesados por

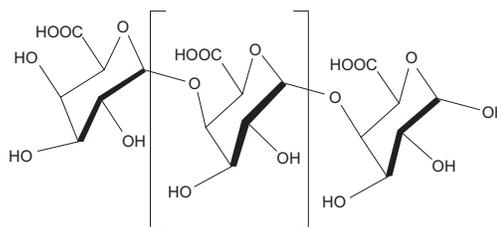


Fig. 1. Estructura química de los oligogalacturónidos

lo que el objetivo del presente trabajo es explorar la posible aplicación de la mezcla de Ogal como bloqueador del efecto contaminante del Cu^{2+} sobre plantas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

La mezcla de Ogal se obtuvo en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba (INCA) a partir de la hidrólisis enzimática de la corteza de cítricos según metodología propuesta por Cabrera (1999). Se seleccionó para el estudio el ion Cu^{2+} que es uno de los metales contaminantes de los suelos cubanos (Muñiz 2001, Angarica 2001)

Se utilizaron semillas de tomate de la variedad Amalia germinadas en recipientes plásticos de 0.3 L de capacidad con suelo contaminado con 5 mg Cu (II)/ kg de suelo (**Cuadro I**). Los tratamientos fueron:

1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (testigo)
2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
3. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 10 mg/L, suelo contaminado
4. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 20 mg/L, suelo contaminado
5. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 30 mg/L, suelo contaminado

Se utilizaron diez recipientes plásticos por cada tratamiento, con una planta cada uno, con un diseño

CUADRO I. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO UTILIZADO

Indicadores	Tratamientos	
	Suelo natural	Suelo contaminado
MO (%)	2.83 ± 0.03	2.53 ± 0.09
P (ppm)	226.0 ± 2.9	244.0 ± 6.1
K	52.36 ± 0.01	30.64 ± 0.01
Ca	10.17 ± 0.39	13.10 ± 0.27
Mg	4.25 ± 0.05	3.53 ± 0.15
pH	6.5 ± 0.1	5.8 ± 0.1

CUADRO II. MÉTODO UTILIZADO PARA EL FRACCIONAMIENTO SELECTIVO DE METALES EN EL SUELO

Fracción	Extrayente	Condición
Hidrosoluble (F1)	H ₂ O	Agitación continua, a T ambiente por 2 horas, centrifugación y filtrado.
Intercambiable (F2)	MgCl ₂ 0.1M	Agitación continua, a T ambiente, por 1 h, centrifugación y filtrado.
Enlazada a la materia orgánica (F3)	NaOCl 6% pH 8.5	30 min. en baño de María a 100 °C, centrifugar, filtrar y repetir, unir extractos evaporar a sequedad y redissolver con HNO ₃ 0.1 M.
Residual y total (F4)	HNO ₃ 4M	En baño de María a 90 °C, por 16 horas, centrifugación y filtrado.

completamente aleatorizado y el riego se realizó según las exigencias del cultivo. A los 25 días de germinadas las semillas se evaluó la longitud de la raíz, la altura de las plantas y el contenido de metales pesados en la planta y en el suelo.

Determinación del contenido de cobre en plantas

Se tomaron 2g de muestra seca y pulverizada de parte aérea y raíz con un tamaño de 60 Mesh en un matraz de 50 mL y se adicionó HNO₃ 6M, sin agitar y sin homogenizar, posteriormente se sonifica por 1 hora, se filtra y se procede a determinar el contenido de metales en la solución por absorción atómica a la llama (Perkin Elmer 3110) a 228.8 nm con un límite de detección de 5 mg/kg.

Fraccionamiento de metales en suelo

El fraccionamiento de metales en el suelo se realizó por el método de extracción según Martínez (2005) (Tabla II). Se consideró evaluar las fracciones hidrosoluble, intercambiable, orgánica y residual. Esta selección se hizo dada la conveniencia de vigilar los cambios producidos en el contenido de metales pesados en el suelo a corto plazo.

Determinación del contenido de metales en las distintas fracciones del suelo

El contenido de metal en cada fracción (CM) en mg por kg de suelo seco se calculó como sigue:

$$CM = \frac{C * V}{Ps_s}$$

Donde:

C = concentración en el extracto (mg/mL)

V = volumen del sobrenadante (mL)

Ps_s = Peso de suelo seco (kg)

La concentración de metales se midió en cada uno de los extractos por espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados se analizaron por análisis de varianza de clasificación simple, en caso de diferencias significativas, las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan (p < 0,05).

RESULTADOS

En la **figura 2** se muestra el efecto del Cu²⁺ sobre la longitud de la raíz de plantas de tomate tratadas con Ogal. De forma general se observan diferencias significativas en la longitud radical de las plantas que crecieron en un medio sin contaminación (testigo) y las que crecieron en contacto con el ion Cu²⁺.

Sin embargo, entre ellas se puede apreciar que hubo una tendencia a la disminución de la longitud radical en las plantas que crecieron en contacto con el cobre sin aplicación previa de oligogalacturónidos,

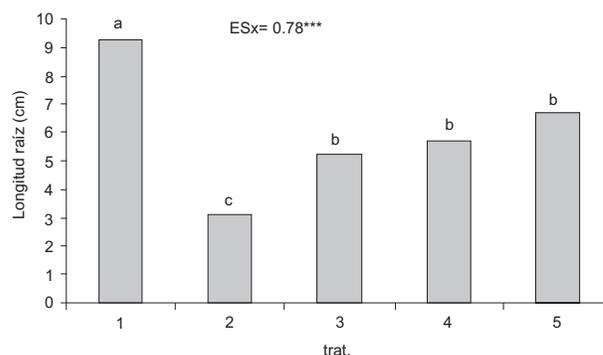


Fig. 2. Efecto del Cu²⁺ en la longitud radical de plantas de tomate tratadas con Ogal

1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (testigo)
2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
3. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 10 mg/L, suelo contaminado
4. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 20 mg/L, suelo contaminado
5. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 30 mg/L, suelo contaminado

presentando diferencias significativas con relación a aquellas que si recibieron tratamiento con el producto, no existiendo diferencias significativas entre estos tratamientos.

Este comportamiento sugiere que la dosis de 5mg/L de iones Cu²⁺ resulta fitotóxica para las plantas de tomate del cultivar Amalia y que la aplicación de oligogalacturónidos en dosis de 10 mg/L y mayores

parecen atenuar la toxicidad o al menos estimula el alargamiento de la raíz principal.

Resultados de la literatura demuestran que las raíces de las plantas se acortan y engrosan debido a que los iones metálicos actúan directamente sobre el metabolismo, interfiriendo en la transferencia de iones a través de las membranas celulares, lo cual afecta posteriormente la habilidad de la planta para la absorción de agua y nutrientes del suelo (Toncheva-Panova *et al.* 2006, Marrero 2005).

La mayor longitud de las raíces de las plantas a las que se les aplicó Ogal con respecto a las crecidas en un medio contaminado sin este producto puede ser consecuencia de la posible formación de quelatos, los cuales incrementan la traslocación de metales del sustrato a la planta, lo cual no permite apreciar el efecto estimulador del crecimiento que también poseen los Ogal y que ha sido observado en diferentes cultivos (Alkorta *et al.* 2004, Benítez *et al.* 2008).

Los resultados de la **figura 3** indican que las plantas que crecieron en un medio contaminado con cobre sin la aplicación del producto disminuyeron su crecimiento en altura presentando diferencias significativas en relación con las plantas que crecieron en un medio con condiciones normales, lo que reitera el efecto fitotóxico de este ion en plantas de tomate.

Sin embargo, las plantas procedentes de las semillas donde se aplicaron diferentes niveles de Ogal, tratamiento 4 y 5 alcanzaron alturas superiores a aquellas donde no se aplicó el producto aún cuando

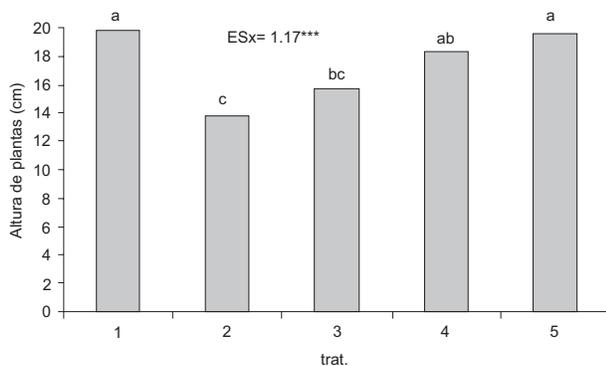


Fig. 3. Efecto del Cu²⁺ en altura de plantas de tomate tratadas con Ogal

1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (testigo)
2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
3. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 10 mg/L, suelo contaminado
4. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 20 mg/L, suelo contaminado
5. Semillas embebidas durante 4 horas con Ogal 30 mg/L, suelo contaminado

estas crecieron en presencia de exceso de Cu²⁺ en el medio. Se puede apreciar también que en la medida en que aumenta la concentración de Ogal aplicada a las semillas se produce una tendencia al aumento de la altura de las plantas, muy similar a las plantas testigo pues no presentan diferencias significativas entre ellas. Estos resultados parecen indicar que los Ogal estimulan el crecimiento en altura (Hernández 2004, Cartaya *et al.* 2008).

Conociendo que los metales pesados se acumulan en diferentes órganos de las plantas según sea la especie, se procedió a evaluar el contenido de Cu²⁺ en las raíces y las hojas de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos en estudio (**Fig. 4**), donde se puede apreciar que en las plantas procedentes de los tratamientos donde no se aplicó Ogal, hubo una mayor acumulación de Cu²⁺ en las hojas que en las raíces.

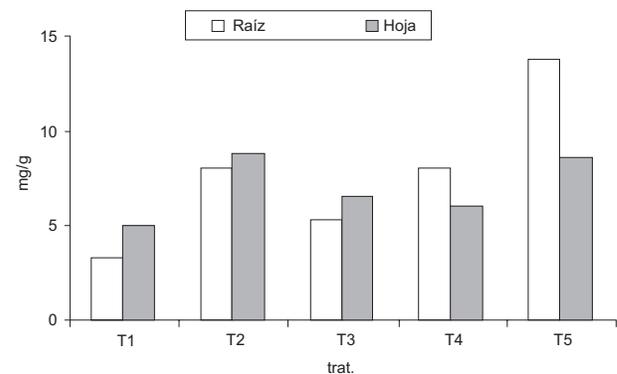


Fig. 4. Contenido de iones Cu²⁺ en las raíces y parte aérea de plantas de tomate cultivada con niveles tóxicos de iones

Este comportamiento en la distribución fue mayor en el tratamiento 1, el cual sólo contiene Cu²⁺ como parte de la composición del suelo y no en exceso como los demás tratamientos.

Se observa además que la dosis de 10 mg/L de Ogal (T3) provocó una distribución de los iones Cu²⁺ en las plantas semejante a la presentada en las plantas testigo, aunque proporcionalmente estas últimas tienen más acumulación foliar, mientras que en las plantas que recibieron dosis más elevadas (20 y 30 mg/L del producto) cambió el patrón de distribución de los iones Cu²⁺ y como resultado de ello se aprecia un contenido mayor en las raíces que en las hojas.

El hecho de que cuando se aplica Ogal haya una mayor acumulación de Cu²⁺ en las raíces que en las hojas, puede ser consecuencia de que este producto se aplicó a las semillas. Otra posibilidad es que tenga una mejor traslocación basipetal que acropetal, por lo que se pudieran obtener mejores resultados en la acu-

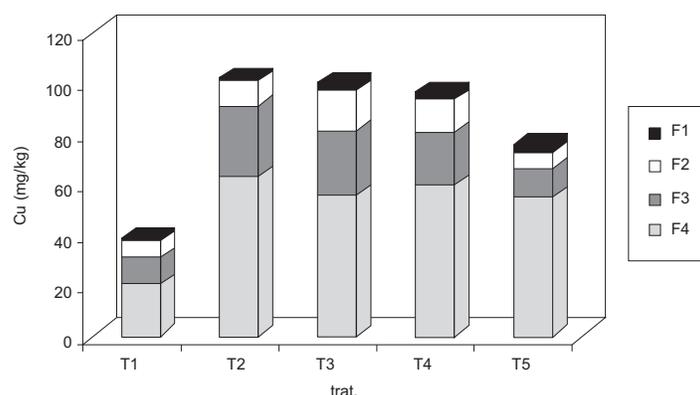


Fig. 5. Distribución geoquímica de ion Cu^{2+} durante el crecimiento de plantas de tomate cultivada con niveles tóxicos de metal

mulación en la parte aérea si se realizaran aspersiones foliares, como fue encontrado por Fuentes (2000).

La acumulación de Cu en el suelo contaminado se encontró principalmente en las dos últimas fracciones: F4 (Cu atrapado entre las estructuras cristalinas de silicoaluminatos, óxidos de hierro cristalino, este material no es disponible para la planta) y F3, fracción que está relacionada con las especies que forman complejos con la materia orgánica natural (ácidos húmicos y fúlvicos) y asociada también a sulfuros.

Se obtuvo también la distribución del Cu en el suelo después del crecimiento de las plantas (Fig. 5) y como se esperaba, la fracción 4 casi no cambió, sin embargo en la fracción 3, a medida que el tiempo transcurrió, la concentración del Cu^{2+} disminuyó. Esto puede deberse a dos posibilidades, una que la planta esté asimilando de esta fracción el Cu y otra es la movilidad química de este metal debida al conjunto de materiales adsorbentes en estado coloidal presentes en el suelo, como arcillas, oxihidróxidos de Fe, de Mn, el mismo material orgánico en forma de derivados húmicos, que es un agente quelatante muy efectivo que permite la migración de metales o movilidad química (Luque *et al.*, 2008).

Gardezi *et al.* (2006) observaron que al usar sales inorgánicas, el Cu^{2+} , como el caso de CuSO_4 , realmente se forma el acuaion $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, que al hidrolizarse con el tiempo forma una suspensión de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ en la superficie del suelo. Este hidróxido se distribuye en la fracción 1 y puede perderse por la lluvia o por el riego, lo que probablemente sucedió en este estudio. Sin embargo se repite en este caso que la fracción 3 vuelve a ser la importante para la asimilación del cobre.

Si se consideran criterios como los de Puga *et al.* (2006), la relativa disponibilidad de cobre en un suelo estará determinada por la respuesta de la planta, la riqueza en materiales húmicos que estimula el metabolismo vegetal y mejora los procesos energéticos, así

como el efecto hormonal y sobre todo el aumento en la permeabilidad de la membrana plasmática de la células de la raíz, lo que se refleja en una mayor absorción de sales de la solución de suelo, de ahí la importancia de las fracciones 3 y 4. Las primeras fracciones 1 y 2, son sensibles a la pérdida del metal por lluvia o riego, ya que el metal está únicamente adsorbido.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos son muy promisorios por lo que se debe continuar profundizando en la interacción de este producto en las plantas, para poder establecer una metodología para el secuestro de iones tóxicos, utilizando productos ecológicamente inocuos.

REFERENCIAS

- Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril I., Amezaña I., Albizu I., Onaindia M. y Garbisu C. (2004). Chelate-enhanced phytoremediation of soil polluted with heavy metals. *Environ Sci. Bio.* 100, 1-16.
- Angarica E. (2001). Los metales pesados de ocho perfiles de un vertisuelo gris amarillento de la zona norte del oriente de Cuba. "Memorias" XV Congreso Latinoamericano y V Congreso Cubano de la Ciencias del Suelo. Ciudad Habana. Cuba. 14 al 17 noviembre, 2001, p. 162.
- Barcelo J. (2003) *Perspectivas actuales de la fitorremediación*. Anuari Reail. Academia de Catalunya, España. 445 pp.
- Benítez B., Soto F., Núñez M. y Yong A. (2008) Crecimiento de plantas de palma areca (*Dyopsis lutescens*, H. Wendel) con aspersiones foliares de una mezcla de oligogalacturónidos. *Cultivos Tropicales* 29, 81-85.

- Cabrera J.C. (1999). Obtención de (1-4) α -d- oligolacturónidos bioactivos a partir de subproductos de la industria cítrica. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Químicas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba. 130 pp.
- Calderón A., Guridi F., García E., Rosado E., Valdés R., Pimentel J. y Nils A. (2007). Material de origen natural que retiene cationes de metales pesados. *Rev. Iberoam. Polim.* 8, 204-214.
- Cartaya O., Marrero O., Reynaldo I. y Peniche C. (2008). Adsorción de iones Cu^{2+} por quitosana y su aplicación al suelo para la protección de las plantas ante la toxicidad del metal. *Cultivos Tropicales* 29, 87-91.
- Cuevas G. y Walter I. (2004). Metales pesados en maíz (*Zea Mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 20, 59-68.
- Fuentes H.D., Khoo C.S., Pe T., Muiray S. y Khan A.G. (2000) Phytoremediation of a contaminated mine site using plant growth regulators to increase metal uptake. *Proceedings of the 5th International Conference on Clean Technologies for the Mining Industry*, Santiago, Chile, mayo 9-13, 2000.
- Gardezi A., Barceló I. D., Bussy A. L., Cetina V. M. y Solís H. E. (2006). Distribución de Cu en un suelo agrícola y su relación con una posible planta fitorremediadora. XV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, Expo Guadalajara, México. 10-14 octubre 2006, 1-10.
- Hernández I. (2004). La quitosana un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales* 25, 97-110.
- Luque C.J., Castellanos E.M., Castillo J.M., González M., González V. y Figueroa M. E. (2008). Distribución de metales pesados en sedimentos de las marismas del odiel (Huelva, SO, España). *Cuaternario y geomorfología* 12, 77-85.
- Marrero O. (2005). Efecto de productos naturales en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Amalia) crecidas en un medio contaminado con cobre. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. UNAH, La Habana, Cuba. 80 pp.
- Martínez Y. y Rivero C. (2005). Evaluación de diferentes métodos para determinar las fracciones de metales pesados presentes en el suelo. *Revista Ingeniería UC.* 12, 14-20.
- Meng-Wei W., Ioana G. P., Hsuan-Ting L., Daeik K. y Teh Fu Y. (2004). Copper adsorption through chitosan immobilized on sand to demonstrate the feasibility for in situ soil decontamination. *Carb. Polym.* 55, 249-254.
- Muñiz O. (2001). Heavy metal pollution in a Rhodic Ferralsol of Cuba. *Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium*, University of Hannover. Canadá, 14- 18 octubre, 2001.
- Navarro J. P., Aguilar I. A y López- Moya J. R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 16, 1-17.
- Puga S., Sosa M., Lebgue T., Quintana C. y Campos A. (2006) Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecol. Apl.* 5. 149-155.
- Toncheva-Panova T., Merakchiyskaa M., Djingovab R., Ivanovaa J., Sholevaa M. y Paunovaa S. (2006). Effect of Cu^{2+} on the red microalga *Rhodella reticulata*. *Gen. Appl. Plant Physiology*, Special Issue, 53-60.