

## Fitorremediación de metales pesados y microorganismos

### Heavy metals phytoremediation and microorganisms

Ramón Alberto Batista García<sup>1</sup> y Ayixon Sánchez Reyes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones del Petróleo. Washington 169 esq. a Churrucá. Cerro. Ciudad de La Habana. Cuba. Lic. Microbiología. Reserva Científica.

### Resumen

La contaminación de hábitat con metales pesados se ha convertido en un problema mundial, por lo que existe la necesidad de sistemas rápidos y accesibles que puedan predecir con fiabilidad las concentraciones de estos elementos en el suelo y sobre esta base fomentar el uso de técnicas de biorremediación para la restauración de sitios contaminados. Especial atención ha de prestarse a la Fitorremediación como una novedosa tecnología para la estabilización y remediación de la contaminación por metales pesados. Numerosos puntos importantes en este proceso deben ser elucidados, entre los que se incluyen la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo y el papel de los microorganismos asociados a las plantas que crecen en estos sitios.

### Abstract

Heavy metal pollution has become a worldwide problem. There is a need for rapid, cost effective systems that reliably predict their availability in the soil and, based on this, to employ biological remediation techniques for site management and restoration. Special attention is paid to phytoremediation as an emerging technology for stabilization and remediation of heavy metal pollution. In order to improve phytoremediation of heavy metal polluted sites, several important points relevant to the process have to be elucidated. These include the speciation and bioavailability of the heavy metals in the soil, the role of plant-associated soil microorganisms.

**Palabras clave:** METALES PESADOS; BIORREMEDIACION; FITORREMEDIACION; CONTAMINACION DEL SUELO; MICROORGANISMOS

### 1.1 Los metales pesados y su impacto ambiental.

El término metal pesado es ampliamente utilizado en materia de contaminación ambiental; una de las definiciones químicas más aceptada los define como metales con una densidad mayor o igual a  $5 \text{ g cm}^{-3}$  (Cañizares, 2000). Los metales pesados constituyen un grupo de 65 elementos con características físicas, químicas y biológicas muy heterogéneas (Gadd, 1992). Se clasifican en esenciales y no esenciales. Los últimos no presentan función biológica y su presencia puede ser tóxica; mientras que los esenciales son requeridos por todos los organismos en cantidades trazas (Valls y De Lorenzo, 2002).

Los metales pesados pueden convertirse en contaminantes si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas. La liberación de efluentes industriales, emisiones vehiculares, actividades agrícolas, extracción de minerales y el refinamiento de productos mineros son consideradas las principales fuentes de contaminación por metales pesados en los ecosistemas terrestres, acuáticos y aéreos (Jing, He y Yang, 2007). A diferencia de los contaminantes orgánicos, el impacto ambiental de la contaminación por metales se acentúa por estos no ser biodegradables (Lasat, 2002). Su permanencia en los ecosistemas provoca diversos y agudos efectos en la biota (Cordero et al., 2005).

## 1.2 Suelos ultramáficos y vegetación asociada

Los suelos ultramáficos o de serpentina se consideran ecosistemas naturales ricos en metales pesados (Chiarucci y Baker, 2007). Las rocas ultramáficas están constituidas por un amplio espectro de minerales, son comunes la piroxenita, dunita, serpentinita y peridotita (Sánchez-Mata et al., 2002). Los suelos que evolucionan sobre este tipo de rocas se caracterizan por ser ligeramente ácidos, presentar bajo contenido de nutrientes (K, N, P), elevados coeficientes de erosión, altas concentraciones de metales pesados (Fe, Co, Cr, Hg, Ni) y bajo coeficiente Ca/Mg (Maleri et al., 2007). Estudios realizados en suelos de serpentina muestran que el contenido de metales pesados depende del material parental sobre el cual evolucionaron los procesos edáficos.

Las peculiaridades edáficas de los suelos ultramáficos que suponen un factor limitante en el crecimiento de muchas plantas, condicionan un alto nivel de endemismo vegetal. La flora de serpentina se ha clasificado en especies serpentinas tolerantes o serpentinas obligadas. Las primeras son especies que a pesar de crecer mejor en otros suelos sobreviven en formaciones de serpentina, mientras que las segundas no pueden ser encontradas en otros tipos de suelos, constituyendo especies endémicas (Reeves et al., 1999).

Las formaciones cubanas de serpentina ocupan aproximadamente el 7% de la superficie del país. Se reconocen 12 áreas ultramáficas en Cuba con diferencias en las edades geológicas, niveles de endemismo vegetal y cantidad de plantas hiperacumuladoras de Ni. Se ha descrito la presencia de 6 375 especies vegetales sobre estos suelos, más de 500 son endémicas, aspecto relacionado estrechamente con la edad geológica de la formación serpentínica (Reeves et al., 1999). La flora de serpentina en Cuba incluye 18 géneros de plantas serpentina tolerantes y 28 géneros de plantas serpentina obligadas, de estos 25 endémicos (Berazain et al., 2007).

## 1.3 Fitorremediación

Los avances tecnológicos para sanear ambientes contaminados con metales pesados han conllevado al desarrollo de alternativas que se basan en el empleo de organismos para prevenir o restaurar daños provocados por acciones antropogénicas que alteran la estabilidad de los diferentes ecosistemas. En este sentido resalta la biorremediación, tecnologías que consisten en el uso de sistemas biológicos naturales o mejorados genéticamente para degradar, transformar o eliminar sustancias peligrosas orgánicas e inorgánicas presentes en los suelos, aguas y aire. Estas tecnologías permitirían que las concentraciones del contaminante sean no detectables o estén por debajo de los límites establecidos como aceptables por las Agencias de Control del Medio Ambiente. Esto permite la recuperación de los sitios contaminados y la protección del ambiente (Mallick, 2003; De Olivera, 2004; Audet y Charest, 2007).

La fitorremediación es una de las vertientes de la biorremediación y puede considerarse una tecnología alternativa rentable y sostenible (Kramer, 2005; Robinson et al., 2006). En esta se usan plantas (Melcer y Post, 2004; Vassilev et al., 2004) y algas (Kirk y Cain, 1996) que almacena y eliminan sustancias tóxicas, como metales, mediante procesos metabólicos (Le Duc y Terry, 2005).

Existen varias técnicas de fitorremediación aplicables a suelos contaminados con metales pesados: fitoextracción, fitoestabilización, fitodegradación, fitovolatilización y

fitorrestauración. La fitoextracción o fitoacumulación, consiste en la absorción y translocación de los metales desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas.

Estas posteriormente se cortan y se incineran o son acumuladas para reciclar los metales. La fitoestabilización se basa en el uso de plantas tolerantes a metales para inmovilizarlos a través de su absorción y acumulación en las raíces o precipitación en la rizosfera, disminuyendo su movilidad y biodisponibilidad para otras plantas o microorganismos en suelos donde la gran cantidad de contaminantes imposibilita la fitoextracción. La fitodegradación y rizodegradación se refieren a la degradación de contaminantes orgánicos a través de las enzimas de las plantas, sus productos o por la acción de microorganismos rizosféricos. La fitorrestauración está referida a la reforestación de áreas contaminadas con especies resistentes de rápido crecimiento, que previenen la migración de partículas contaminantes y la erosión de los suelos (Robinson et al., 2006; Jing, He y Yang, 2007).

Muchas investigaciones indican que las plantas tienen el potencial genético para remover metales tóxicos del suelo. Sin embargo, la fitorremediación todavía no es una tecnología disponible comercialmente. Los progresos en el campo están limitados por falta de conocimientos sobre las interacciones en la rizosfera y los mecanismos de las plantas que permiten la translocación del metal y su acumulación (Viñas et al., 2005; Robinson et al., 2006).

Las comunidades bacterianas asociadas a las raíces de las plantas hiperacumuladoras de metales desempeñan una función muy importante en el proceso de extracción del metal contenido en el suelo. Es por ello que la fitorremediación demanda del estudio de las comunidades microbianas relacionadas con estas plantas y de las interacciones que los microorganismos establecen con estas (Aboru et al., 2003).

Los microorganismos del suelo exudan compuestos orgánicos que estimulan la biodisponibilidad y facilitan la absorción de la raíz de una gran variedad de iones de metal que incluyen  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  y posiblemente  $\text{Cd}^{2+}$  (Bural, Dixon y Glick, 2000). Además se conocen bacterias quimiolitótrofas que poseen mecanismos de transferencia y movilización de metales, modificando las propiedades químicas del suelo rizosférico con efectos subsecuentes en la movilidad del metal contaminante (Vivas et al., 2006; Jing, He y Yang, 2007).

Entre las especies de hongos formadores de micorrizas identificadas en suelos ricos en metales se encuentran: *Eutrophosphora* spp., *Gigaspora* spp. y *Glomus* spp. En las hifas de *Glomus mosseae* el  $\text{Cd}^{2+}$  es secuestrado por restricción debido a la síntesis fúngica de glicoproteínas insolubles como la glomalina (Khan, 2006). La acumulación de Cd y Ni en plantas de *Cannabis sativa* cultivadas sobre suelos contaminados con estos metales e inoculados con *Glomus mosseae* fue mayor que en plantas no infectadas por hongos micorrizógenos. La micorrización permite la translocación de los metales de las raíces a los retoños favoreciendo la fitoextracción del metal (Citterio et al., 2005); por ejemplo, las micorrizas en maíz aumentan la absorción de  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  (Shen, Christie y Li, 2006). Las relaciones establecidas entre *Glomus mosseae* y algunas bacterias permiten que se aumenten en la rizosfera las actividades deshidrogenasa, fosfatasa y  $\beta$  – glucoxidasa (Vivas et al., 2006).

El estudio de agentes quelantes y su posible incidencia en la fitorremediación es un tema ampliamente examinado en la actualidad. Los resultados a nivel de laboratorio señalan que la adición al suelo de agentes quelantes, como glucosa y ácido cítrico,

facilitan la fitorremediación de suelos contaminados con Cu y no tiene efectos negativos sobre las comunidades microbianas ni sobre la biomasa de la planta.

Algunos investigadores plantean que la adición de agentes quelantes aumenta la diversidad microbiana en el suelo. El ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), la glucosa y el ácido cítrico favorecen la fitoextracción de Cu por *Elsholtzia splendens* (Yang et al., 2005; Chen et al., 2006). Muchos agentes quelantes como el ácido N – etilendiamino disuccínico (EDDS) incrementan la solubilidad del Cu y el Zn y favorecen los procesos de absorción por la planta (Wu et al., 2007). La aplicación de EDDS aumenta la fitoextracción de Pb, Cu y Zn empleando maíz (Luo, Shen y Li, 2007).

Las poblaciones microbianas rizosféricas parecen tener un importante impacto en la fitorremediación de sitios contaminados por metales pesados. Afectan la movilidad y captación del metal en la planta por liberación de agentes quelantes, acidificación del suelo, solubilización de fosfatos y reacciones Redox, además producen fitohormonas que promueven el crecimiento vegetal. Las interacciones establecidas entre los metales presentes en el suelo, las plantas hiperacumuladoras y la microbiota de estos ecosistemas son estudiadas en profundidad en el contexto de la biotecnología ambiental, con el objetivo de implementar métodos factibles de remoción, recuperación o destoxificación de metales pesados (Khan, 2006).

## BIBLIOGRAFÍA

- Aboru R., Angle J., Delorme T., Chaney R., van Berkum P., Hoawad H., Ghanem K., Ghuzlan H. (2003) Rhizobacterial effects of níkel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New Phytologist*, 158: 219-224.
- Audet P., Charest C. (2007) Heavy metal phytoremediation from a metal-analytical perspective. *Environ. Pollut.*, 147: 231-237.
- Berazaín R., de la Fuente V., Sánchez-Mata D., Rulfo L., Rodríguez N., Amils R. (2007) Níkel localization on tissues of hyperaccumulator species of *Phyllanthus* L. (*Euphorbiaceae*) from ultramafic areas of Cuba. *Biol. Trace Elem. Res.*, 115: 67-86.
- Bural G., Dixon D., Glick B. (2000) Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Can. Journal Microbiol.*, 46: 237–245.
- Cañizares R. (2000) Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42: 131-143.
- 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 non-accumulator. *Sci. Total Environ.*, 356: 247-255.
- Chiarucci A., Baker A. (2007) Advances in the ecology of serpentine soils. *Plant Soil*, 293: 1-2.
- Citterio S., Prato N., Fumugalli R., Aina R., Massa N., Santagostino A., Sgorbati S., Berta G. (2005) The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere*, 59: 9-21.
- Cordero J., Guevara M., Morales E., Lodeiros C. (2005) Efecto de metales pesados en el crecimiento de la microalga tropical *Tetraselmis chuii* (*Prasinophyceae*). *Revista Biología Tropical*, 53: 325-330.
- De Olivera L. (2004) Heavy metal biosorption by chitin and chitosin isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 243-247.

- Gadd G. (1992) Heavy metals pollutants: environments and biotechnological aspects. *Academic Press Inc.*, 9: 174-185.
- Jing Y., He Z., Yang X. (2007) Role rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Journal Zhejiang Univ. Sci. B.*, 8: 192-207.
- Khan A., (2006) Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. *Journal Zhejiang Univ. Sci. B.*, 7: 503-514.
- Kirk T., Cain R. (1996) Biodegradation of phenolics by the alga *Ochromonas danica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2: 1265-1273.
- Kramer V. (2005) Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current opinions in Biotechnology*, 16: 133-141.
- Lasat M. (2002) Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *Journal Environ. Qual.*, 31: 109-121.
- Le Duc D., Terry N. (2005) Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 32: 514-520.
- 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.
- Maleri R., Reinecke S., Mesjasz-Przybylowics J., Reinecke A. (2007) Growth and reproduction of *Earthworms* in ultramafic soils. *Arab. Environ. Contam. Toxicol.*
- Mallick N. (2003) Biotechnological potential of *Chlorella vulgaris* for accumulation of Co and Ni from single and metal solution. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19: 695-701.
- Melcer R., Post L. (2004) Merging genes lould create plants that clean contaminated ground. *From green to clean*.
- Reeves R., Baker J., Borhidi A., Berazaín R. (1999) Nickel hyperaccumulation in the serpentine flora of Cuba. *Annals of Botany* 83: 29-38.
- Robinson B., Schulin R., Nowack B., Roulier S., Menon M., Clothier B., Green S., Mills T. (2006) Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated site. *Snow Landsc. Res.*, 80: 221-234.
- Sánchez-Mata D., Vicenta G., Hernández R., Rodríguez-Rojo M. (2002) Estudios sobre fuentes hiperacumuladoras de níquel en la flora serpentinícola de California. *Sahironia* 1: 31-34.
- Shen H., Christie P., Li X. (2006) Uptake of zinc, cadmium and phosphorus by arbuscular mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) from a low available phosphorus calcareous soil spiked with zinc and camium. *Environ. Geochem. Health*, 28: 111-119.
- 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.
- 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.
- Viñas M., Sabuté J., Espuny M., Solares A. (2005) Bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation during bioremediation of heavily creosote-contaminated. *Soil Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 7008-7018.

- Vivas A., Barea J., Biró B., Azcón R. (2006) Effectiveness of autochthonous bacterium and mycorrhizal fungus on *Trifolium* growth, symbiotic development and soil enzymatic activity in Zn contaminated soil. *Journal Appl. Microbiol.*, 100: 587-598.
- Wu L., Sun X., Luo Y., Xing X., Christie P. (2007) Influence of [S,S]-EDDS on phytoextraction of copper and zinc by *Elsholtzia splendens* from metal contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 9: 227-241.
- Yang X., Peng H., Jiang L., He Z. (2005) Phytoextraction of copper from contaminated soil by *Elscholtzia splendens* as affected by EDTA, citric acid and compost. *International Journal Phytoremediation*, 7: 69-83.