

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua

Recinto Universitario "Rubén Darío"

Facultad de Ciencias e Ingenierías

Departamento de Biología



Monografía para optar al título de Licenciatura en Biología con mención en
Educación Ambiental y Administración de Recursos Naturales

**Evaluación del potencial de fitorremediación de *Paspalum conjugatum* P. J.
Bergius y hongos autóctonos en sedimentos contaminados por metales y
metaloides del Botadero La Estrella, Santo Domingo, Chontales.**

Autores:

Bra. Arias Bermúdez Valeria Massiel

Br. Herrera Gutiérrez Berman José

Tutora:

Dra. Katia Montenegro Rayo

Asesoras:

Lic. Zulma Francisca Pérez

Ing. Ena Rivers

Managua, enero de 2015.

Dedicatoria

A:

Mi señor Jesucristo por dar sentido a mi vida y guiar cada uno de mis pasos, por guardar mis pensamientos y dirigir cada una de mis decisiones, por enseñarme a esforzarme y ser valiente en cada experiencia vivida.

Mis padres, Teresa de Jesús Bermúdez y Guillermo Arias que con su esfuerzo y su ejemplo me han enseñado que los mejores logros se obtienen con el esfuerzo, por darme las herramientas necesarias para luchar por cada una de mis metas.

Mis abuelitos Teresa de Jesús Ruiz y Guillermo Arias que siempre soñaron con verme culminar mis estudios universitarios, y aunque no están conmigo en este momento sé que se sienten orgullosos de este nuevo logro.

Mis familiares y amigos por brindarme su apoyo incondicional en momentos buenos y difíciles.

Bra. Valeria Arias Bermúdez

Dedicatoria

A:

Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Mis padres Azucena Gutiérrez, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaste. A ti papá Herma Herrera, porque has luchado hasta el final por darme lo necesario y mostrarme que todo en esta vida cuesta, por haber sacrificado todo por mí y por qué muy confiado sabias que alcanzaría mis metas, gracias mama y gracias papa por darme una carrera para mi futuro, todo esto se los debo a ustedes.

Mis hermanos Román Herrera y Maycol Herrera por su apoyo incondicional.

Y sobre todo a Lic. Isabel Benavidez y Diputada Maritza Espinales por todo el apoyo que me brindaron durante mi estadía en el internado de nuestra Alma Mater UNAN-Managua, les quiero mucho y siempre agradecido por su cariño brindado.

Br. Berman Herrera

Agradecimientos:

Primeramente a Dios por darme la capacidad y la fuerza para culminar esta meta con gozo en el corazón, por su gracia puesta en mi vida y su infinito amor que permitió que todo mi esfuerzo no fuera en vano.

A mis padres, que diariamente me dieron el ánimo necesario para seguir luchando y esforzándome por esta nueva victoria.

A mi tía Lucina Bermúdez, que me dio su apoyo incondicional en esta etapa tan importante.

A nuestra tutora Dra. Katia Montenegro y a la Directora del Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua Dra. Martha Lacayo por permitirnos realizar esta monografía bajo su asesoramiento y dirección. Su apoyo y capacidad para guiar nuestras ideas en el desarrollo de esta investigación, y también a nuestra formación como investigadores y profesionales. A la Dra. Katarzyna Turnau del Instituto de Estudios Ambientales de la Universidad Jagielloniana (Krakovia, Polonia) por la inspiración y apoyo técnico brindado para la realización de este trabajo. A cada uno de los analistas del Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua que nos aportaron de su conocimiento para culminar nuestro estudio investigativo. A cada uno de mis maestros del departamento de Biología que con amor y dedicación me transmitieron el conocimiento necesario para triunfar y culminar mis estudios universitarios.

A la Agencia Austriaca para la Cooperación Internacional en Educación e Investigación (OeAD), que dentro del marco de APPEAR, y en unión con las Universidades de Vienna, UNAN-Managua y la Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo, Perú, a través del proyecto de Biorremediación de Sitios Contaminados: Investigación y Educación (BIOREM); nos permitieron ser parte de este proyecto y brindaron los medios económicos para la realización de este trabajo monográfico.

Bra. Valeria Arias Bermúdez

Agradecimientos:

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de felicidad.

Le doy gracias a mis padres Azucena Gutiérrez, Herman Herrera por apoyarme en todo momento, por dar más de lo que no tenías para que pudiese alcanzar mis metas, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un ejemplo excelente de vida a seguir.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar. A Román y Maycol por todos esos momentos de vida que hemos compartidos y que nos hacen tan feliz.

A la Lic. Isabel Benavidez por todo su apoyo incondicional cuando necesite de su ayuda, de igual manera agradezco a este pedazo de gente Maritza Espinales porque te convertiste en una segunda madre para mí, porque me trataste todo el tiempo como un hijo, sobre todo inculcándome el valor del amor, el respeto y sobre todo la fe en que todo en esta vida es posible siempre y cuando estés seguro de lo que quieres para ti.

A nuestra estimada Dra. Katia Montenegro y a la Directora del Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua Dra. Martha Lacayo por permitirnos realizar esta monografía bajo su asesoramiento y dirección. Su apoyo y capacidad para guiar nuestras ideas en el desarrollo de esta investigación, y también a nuestra formación como investigadores y profesionales. A la Dra. Katarzyna Turnau del Instituto de Estudios Ambientales de la Universidad Jagielloniana (Krakovia, Polonia) por la inspiración y apoyo técnico brindado para la realización de este trabajo. A los analistas de todas las áreas del Laboratorio de Biotecnología que brindaron su aporte en la realización de muestreos y análisis, agradeciendo el habernos facilitado los conocimientos y medios para llevar a cabo todas las actividades necesarias para la realización de esta investigación. En especial a la Lic. Geraldina Cuadra Vargas cuya colaboración fue indispensable para el desarrollo de este estudio.

A la Agencia Austriaca para la Cooperación Internacional en Educación e Investigación (OeAD), que dentro del marco de APPEAR, y en unión con las Universidades de Vienna, UNAN-Managua y la Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo, Perú, a través del proyecto de Biorremediación de Sitios Contaminados: Investigación y Educación (BIOREM); nos permitieron ser parte de este proyecto y brindaron los medios económicos para la realización de este trabajo monográfico.

Br. Berman Herrera

Resumen

La actividad minera a nivel mundial ocasiona una serie de impactos ambientales significativos entre los que se distingue la degradación de ecosistemas. En el área de estudio la actividad minera artesanal genera desechos líquidos y sólidos que contienen una gran variedad de metales y metaloides potencialmente tóxicos que son vertidos directamente al Río Sucio y acumulados en un Botadero provocando afectación directa a los ecosistemas aledaños y la salud humana y ambiental. La remediación o rehabilitación de suelos o sedimentos industriales contaminados como los de los botaderos mediante los métodos tradicionales requiere de una gran inversión económica y a su vez destruyen la estructura y la biota del suelo lo que reduce su sostenibilidad económica y ambiental por lo que la fitorremediación en la que se utilizan plantas para remover o inmovilizar contaminantes es muy promisoria. Es por eso que en este estudio se evalúa a escala experimental el potencial fitorremediador de la grama *Paspalum conjugatum* P. J. Bergius aislada del Botadero La Estrella (Santo Domingo, Chontales) tomando en cuenta la influencia de su interacción con diferentes tipos de hongos autóctonos (hongos micorrízicos y hongos aislados del sedimento) y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación, distribución y lixiviación de metales y metaloides de interés presentes en los sedimentos mineros contaminados. Los factores de bioconcentración (BCFs) y los patrones de acumulación de los metales y metaloides de interés permiten identificar un alto potencial de acumulación en *P. conjugatum* para Selenio, Mercurio y Zinc, especialmente en los tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos, y que la planta actúa como indicadora de suelos o sustratos contaminados por Plomo, Cobre, Cadmio, Plata, Aluminio, Bario y Cobalto. Los elementos altamente tóxicos Arsénico y Talio presentan muy bajo potencial de acumulación especialmente en los tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos. El Cromo se acumuló muy poco en las raíces pero tiene potencial de traslocación a los órganos aéreos que identifica a *P. conjugatum* como planta indicadora de contaminación por Cromo. Los factores de Traslocación (FT) permiten identificar un alto potencial de distribución a los órganos vegetativos aéreos (tallo + hojas) para Selenio y Cromo, especialmente en los

tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos e identifican que *P. conjugatum* actúa como planta indicadora de suelos o sustratos contaminados por Zinc y como exclusora de Arsénico, Plomo, Cobre, Cadmio, Mercurio, Plata, Aluminio, Bario, Cobalto y Talio. La presencia de *Paspalum conjugatum* no permitió lixiviación importante de siete metales y metaloides de interés potencialmente tóxicos como son Cobre, Cromo, Cadmio, Arsénico, Mercurio, Aluminio y Talio en todos los tratamientos independientemente de si el sustrato fuera o no inoculado con hongos autóctonos lo que implica que éstos fueron inmovilizados principalmente por la cobertura vegetal. Los otros elementos de interés como son Plomo, Zinc, Selenio, Bario y Cobalto presentaron patrones de movilización (aumento de la lixiviación) en algunos tratamientos y de inmovilización (disminución de la lixiviación) en otros. Las características fisiológicas utilizadas para evaluar el desempeño de las plantas de *P. conjugatum* en los diferentes tratamientos implican que la texturización y pasteurización del sedimento minero potenció la producción de hojas, entrenudos, crecimiento en general y biomasa de órganos aéreos más que la inoculación de hongos autóctonos, a excepción del tratamiento con hongos micorrízicos inoculados en el Laboratorio, y lo contrario en los estolones y biomasa de raíces. La intensidad de la colonización de los hongos micorrízicos en las raíces de las plantas de *P. conjugatum* en los diferentes tratamientos se pudo explicar en base a si habían condiciones óptimas de textura y humedad para que el proceso de micorrización se diera así como que su inhibición se debió más posiblemente a la competencia por nutrientes entre los diferentes tipos de hongos autóctonos inoculados y no por la presencia de metales y metaloides en altas concentraciones.

Palabras clave: fitorremediación, hongos autóctonos, hongos micorrízicos, metales y metaloides, lixiviación, fitolixiviación.

Contenido

I. Introducción	1
II. Antecedentes.	3
III. Justificación	5
IV. Objetivos	6
V. Marco teórico	7
5.1. Características físico- químicas del suelo/sedimento y calidad ambiental.	7
5.2. Impacto ambiental de la actividad minera	9
5.3. Contaminación por metales pesados	10
5.4. Metales y metaloides de interés.....	11
5.4.2. Metaloides	11
5.4.1 Metales.....	15
5.5. Actividad minera en la zona Central de Nicaragua.....	21
5.6. Alternativas de remediación de sitios contaminados por metales pesados.....	24
5.7. Fitorremediación	25
5.8. Estrategias básicas de las plantas para crecer sobre sitios contaminados	27
5.9 Plantas presentes en ambientes contaminados por metales pesados	29
5.9.1 Familia Poaceae (R. Br.) Barnhart.....	29
5.9.2 Morfología de la especie de interés.....	31
5.9.3 Paspalum conjugatum P.J. Bergius.....	31
5.10 Microorganismos de lixiviación-Hongos.....	32
5.11 Hongos Micorrízicos.....	32
VI. Preguntas de investigación	33
VII. Diseño metodológico.	34
7.1. Tipo de estudio	34
7.2. Alcance del problema de investigación.....	35
7.3. Universo	35
7.4. Muestra.	35
7.5. Operacionalización de variables de estudio.....	36
7.7. Métodos y procedimientos	37
7.7.1. Diseño experimental.	37
7.8 Preparación del material vegetal y sustrato para el montaje de los experimentos ...	39
7.9 Estimación de niveles de colonización de micorrizas.	42
7.10 Colecta de indicadores de crecimiento y viabilidad de P. conjugatum	43

7.10.1 Instrumentos para la obtención de datos	43
7.11 Medición de parámetros químicos	43
VIII. Resultados	44
8.1 Metales y metaloides de interés en sustrato	44
8.2 Metales y metaloides de interés en los órganos vegetativos de <i>Paspalum conjugatum</i>	49
8.3 Factores de bioconcentración y de traslocación de los metales y metaloides de interés	52
8.4 Lixiviación de metales y metaloides de interés	58
Cadmio (Cd)	59
Arsénico (As)	59
Mercurio (Hg)	59
Plata (Ag)	59
8.5 Crecimiento y viabilidad de <i>Paspalum conjugatum</i> en los diferentes tratamientos e interacción con los consorcios fúngicos inoculados y el proceso de micorrización	60
8.5.1 Crecimiento y viabilidad de <i>P. conjugatum</i> en los tratamientos	60
8.6 Influencia de los tratamientos en el proceso de colonización de micorrizas en plantas de <i>P. conjugatum</i>	64
8.6.1 Interacción entre hongos autóctonos (hongos micorrízicos y hongos aislados del suelo/sedimento)	66
IX. Conclusiones	68
X. Recomendaciones	71
XI. Bibliografía	72
XII. Glosario	83

I. Introducción

La progresiva degradación de los recursos naturales (ecosistemas acuáticos y terrestres) es un problema mundial causada por una gran variedad de contaminantes orgánicos (e.g., plaguicidas) e inorgánicos (e.g., metales y metaloides), algunos muy tóxicos, que pueden ser originados por procesos naturales (e.g., erupciones volcánicas) o por diversas actividades antropogénicas (e.g., minería). (Sierra, 2006).

En algunas áreas de Nicaragua existe riqueza de minerales preciosos como el oro y la plata, como por ejemplo en la región central del país en el municipio de Santo Domingo, Chontales. En este municipio la minería es el primordial rubro económico para los habitantes de la zona generando actividad minera a baja escala (artesanal y de güiriseros) y a escala industrial (B2Gold) (Castellón, 2010).

La actividad minera a gran escala ocasiona en sus diferentes etapas (exploración, explotación y procesamiento) una serie de impactos ambientales significativos tales como: degradación de ecosistemas y recursos naturales, afectación a cuencas hídricas importantes, la pérdida de los recursos forestales y amenazas para la diversidad biológica (Castellón, 2010).

La actividad minera en el área de Santo Domingo genera desechos líquidos y sólidos que contienen una gran variedad de metales y metaloides debido al procesamiento de concentración del material geológico incluyendo además las sustancias que se utilizan en la amalgamación de los metales de interés (cianuro y mercurio) (CIRA, MARENA, & INIFOM., 2006). Estos contaminantes son vertidos directamente al Río Sucio en el caso de los desechos líquidos y acumulados a las orillas del río en el caso de los sólidos en forma de Botadero provocando afectación directa a fuentes de agua, al suelo, a la biota y también el aire (CIRA, MARENA, & INIFOM., 2006).

La recuperación, remediación o rehabilitación de suelos o sedimentos industriales contaminados como los de los botaderos o colas mineras mediante los métodos

tradicionales físicos o químicos requieren de una gran inversión económica y a su vez destruyen la estructura y la biota del suelo lo que reduce su sostenibilidad económica y ambiental (Turnau, 2004). Entre las técnicas de biorremediación está la fitorremediación en la que se utilizan plantas para remover contaminantes y es una de las más promisorias para remediar sitios contaminados por metales pesados sin perturbar la calidad ambiental (Brooks, 1998). Debido a las experiencias de esfuerzos de remediación que se han tenido a nivel mundial se ha recomendado tomar en cuenta el potencial de la flora existente o nativa de los sitios contaminados (Cuevas, 2010).

En este estudio se evalúa a escala experimental de laboratorio el potencial fito-remediador de la grama *Paspalum conjugatum* P.J. Bergius aislada del Botadero La Estrella (Santo Domingo, Chontales) tomando en cuenta la influencia de su interacción con diferentes hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación, distribución y lixiviación de metales y metaloides de interés presentes en sedimentos mineros contaminados.

II. Antecedentes.

Se han realizado algunos estudios ambientales en el área de Santo Domingo (Chontales) con énfasis en determinar el impacto de la minería sobre la calidad físico-química de las aguas superficiales y subterráneas (Silva, 1994; Albuquerque, 1996; André et al, 1997; Aronsson y Wallner, 2002; Grunander y Nordenberg, 2004) y tratando de identificar áreas de conexión hidráulica debido a las condiciones geológicas de la región (presencia de fracturas y fallas) entre las aguas subterráneas y el Río Artiguas así como de estimar el riesgo ecológico debido a la exposición al mercurio y otros metales tóxicos (como el Plomo) así como su transporte y destino en la microcuenca del Río Artiguas (Mendoza, 2006; Picado, 2008). Estos estudios han encontrado concentraciones preocupantes de algunos metales (Plomo, Cadmio, Mercurio y Cobre) en agua y sedimentos del Río Artiguas y sus alrededores (manantiales).

Los desechos mineros no habían sido estudiados antes hasta recientemente dentro del Proyecto BIOREM (Biorremediación de sitios contaminados: investigación y educación) realizado por el Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua (2011-2014). En este proyecto se detectaron concentraciones de elementos trazas potencialmente tóxicos como son el Plomo, Bario, Cobre, Zinc y Talio (Pb, Ba, Cu, Zn y Tl, respectivamente) en el Botadero de la Planta La Estrella (Mendieta y Taisigüe, 2015).

Las técnicas biológicas para la remediación de suelos contaminados en Nicaragua se han implementado muy poco, solo se ha reportado que se han utilizado para la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos (La Prensa, 2009), en la Planta de Tratamiento *ex situ* "San Benito" de la empresa Environmental Protection & Control (EPC) en la que utilizan enzimas bacterianas y enmiendas de nutrientes para realizar la biorremediación. No tenemos conocimiento de que las técnicas de biorremediación hayan sido implementadas para la rehabilitación de suelos o sedimentos contaminados por metales y metaloides en el país.

Una investigación del Proyecto BIOREM (Mendieta y Taisigue, 2015) ha identificado a la grama *Paspalum conjugatum* con potencial de acumulación de Plata, Cromo, Mercurio, Selenio y Cadmio y de traslocación de Cromo (tallos, hojas y flores) y Zinc (flores). En este estudio se colectaron plantas que crecen naturalmente en los alrededores del Botadero La Estrella en Santo Domingo, Chontales y se analizaron las concentraciones de 32 metales, metaloides y no-metales en el suelo de la rizósfera y en los diferentes órganos vegetativos (raíz, tallo, hojas y flores).

Entre las investigaciones que se reportan para la remediación de contaminantes procedentes del sector minero a nivel latinoamericano se encuentran las experiencias en Perú, con estudios relacionados con la capacidad de bioacumulación de metales provenientes de minas o roca en las comunidades vegetales nativas (Palomino y Paredes, 2003).

En Estados Unidos también a escala experimental y en pruebas de campo a pequeña escala se ha propuesto el uso de una nueva técnica de fito-remediación, la fito-lixiviación, que es una mezcla entre la fito-extracción y el lavado de suelos (Kertulis-Tartar, 2005). El lavado de suelos es una de las técnicas de remediación química usadas por la Agencia Norteamericana de Protección Ambiental USEPA para la limpieza *ex situ* o *in situ* de suelos contaminados (e.g., por el metaloide arsénico) en la que el enjuague o lavado del suelo se hace con agua para concentrar o movilizar los contaminantes que serían colectados para su posterior remoción o tratamiento (USEPA, 2002).

En recientes experimentos realizados en Europa buscando estrategias que permitan facilitar o aumentar el crecimiento de las plantas en sustratos contaminados por metales y metaloides se ha propuesto la manipulación de la textura del suelo o sedimento a remediar y la adición de consorcios microbianos que pudieran contribuir en el proceso de fitoremediación (Lichtscheidl, 2014). Las plantas herbáceas de la Familia Poaceae han sido recomendadas para la fitoremediación debido principalmente a que viven naturalmente en los botaderos mineros y además tienen potencial de formar una densa cubierta vegetal (Lichtscheidl, 2014).

III. Justificación

Los residuos mineros generan riesgos a la salud ambiental y humana debido a que aumentan las concentraciones de elementos trazas potencialmente tóxicos como son el Plomo, Bario, Cobre, Zinc y Talio (Pb, Ba, Cu, Zn y Tl, respectivamente) que han sido detectados en los sedimentos generados por la minería artesanal en el área de estudio en Santo Domingo, Chontales.

La recuperación, remediación o rehabilitación de suelos o sedimentos industriales contaminados mediante los métodos tradicionales físicos o químicos requieren de una gran inversión económica y a su vez destruyen la estructura y la biota del suelo lo que reduce su sostenibilidad económica y ambiental por lo que proponemos el uso de alternativas biológicas no-convencionales (e.g., las técnicas de fito-remediación y biolixiviación).

Las técnicas biológicas para la remediación de suelos o sedimentos contaminados por metales y metaloides no se han usado en Nicaragua por lo que este trabajo de investigación sería pionero en el área. Se ha seleccionado a la grama *Paspalum conjugatum* debido a que se ha encontrado creando cubierta vegetal en botaderos mineros del área de estudio y hay evidencias de que tiene potencial de acumulación y de traslocación de metales y metaloides.

Por lo antes expuesto se ha diseñado este estudio a escala experimental de laboratorio para evaluar el potencial de fitorremediación de la grama *Paspalum conjugatum* P. J. Bergius para ser usada en la rehabilitación o recuperación de los sedimentos generados por la minería artesanal usando las capacidades de las plantas, microorganismos del suelo y de la rizosfera así como su interacción.

IV. Objetivos

General

Evaluar el potencial de fitorremediación de *Paspalum conjugatum* P. J. Bergius y hongos autóctonos en sedimentos contaminados por metales y metaloides del Botadero La Estrella ubicado en la ribera del Río Sucio, Santo Domingo, Chontales.

Específicos

Determinar la influencia de la interacción entre *Paspalum conjugatum* y diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación y de distribución a los órganos vegetativos aéreos de 13 metales y metaloides de interés presentes en los sedimentos mineros contaminados.

Determinar la influencia de la interacción entre *Paspalum conjugatum* y diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de lixiviación de 13 metales y metaloides de interés presentes en los sedimentos mineros contaminados.

Determinar la influencia de diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre el crecimiento y viabilidad de *Paspalum conjugatum*.

V. Marco teórico

5.1. Características físico- químicas del suelo/sedimento y calidad ambiental.

Los suelos se caracterizan por presentar diferentes propiedades físicas, químicas y biológicas y debido a que existe interacción entre sus componentes bióticas y abióticas por lo tanto son considerados ecosistemas (Smith y Smith, 2007). Los suelos son afectados por las actividades humanas, como la industrial, la municipal y la agrícola, que a menudo resulta en la degradación del suelo y pérdida o reducción de sus funciones debido a cambios en sus características físico-químicas o biológicas (FAO, 2009).

Entre las características físicas del suelo se distingue la textura que se refiere a la proporción relativa de las clases de tamaños de partículas o fracciones de suelo (% de grava, arena, limo o arcilla) y se describe como una clase textural de suelo/sedimento (e.g. franco, franco limoso, franco arcilloso) (FAO, 2009). La dominancia de fracciones ya sean finas o gruesas en un suelo, le determina una textura que tiende a retardar o acelerar el movimiento del agua y del aire (Smith y Smith, 2007). Las fracciones gruesas de los suelos y sedimentos son las arenas (0,05- 2 mm) y gravas (> 2 mm) y tienen baja capacidad de retener agua pero poseen un buen drenaje y permiten la aireación. Por el contrario las fracciones finas, limo (0,002 a 0,05 mm) y arcilla (<0,002 mm) dan al suelo una alta capacidad de retener agua pero limitan la aireación y la penetración de las raíces de las plantas. El contenido de arcilla es el que controla las propiedades más importantes de los suelos en términos de fertilidad como son la capacidad de retención de agua y la de intercambio iónico entre las partículas y el lixiviado de los suelos o sedimentos. El suelo ideal para el cultivo (mayor capacidad de agua disponible) es el intermedio (franco arcillo-limoso).

La Capacidad de Intercambio Iónico (CIC) es una propiedad química de la que se puede inferir la magnitud de la reserva de nutrientes del suelo/sedimento, el grado de intemperismo o meteorización que ha sufrido y el tipo de arcilla presente. A partir

del valor numérico de la CIC se puede predecir la clase del suelo/sedimento en términos de fertilidad (SEMARNAT, 2002). Los elementos químicos ionizables del suelo se disuelven en el agua para formar lo que se denomina nutrientes intercambiables (cationes y aniones) que serán quienes estén mayormente disponibles para ser absorbidos y utilizados por las plantas o lixiviados hacia el suelo y acuíferos (Smith y Smith 2007). Es un parámetro básico de calidad físico-química del suelo y aumenta con el contenido de arcilla y materia orgánica (Smith y Smith 2007).

La calidad del suelo debe interpretarse como su posibilidad de uso para un propósito específico en una escala amplia de tiempo (Bautista et al, 2004). Idealmente, si un suelo cumple con los niveles recomendados en las normas, guías o directrices de calidad sería capaz de funcionar como un ecosistema saludable que podría mantener los usos presentes y futuros de un sitio al proteger la salud de los receptores ecológicos y humanos (CCME, 1999a).

Las directrices o criterios genéricos de calidad ambiental (agua, suelo, sedimento, aire) han probado ser valiosos instrumentos para el manejo de la calidad ambiental de ecosistemas acuáticos y terrestres. A falta de legislación para caracterizar la calidad físico-química de los suelos y sedimentos en Nicaragua en el presente trabajo se usarán como referencias las Directrices Canadienses (CSQG, 2007). Las Directrices Canadienses de calidad de suelo han sido derivadas específicamente para la protección de receptores ecológicos en el ambiente o para la protección de la salud humana para los cuatro usos asociados del suelo (agrícola, residencial/parque, comercial e industrial). Estas han sido desarrolladas para cada sustancia o elemento después de recopilar extensivamente información de sus características físico-químicas, niveles de línea base, toxicidad hacia receptores ecológicos clave (e.g., organismos del suelo, plantas), comportamiento y destino ambiental (CCME, 1999^a). Estas además utilizan criterios para considerar vías directas e indirectas importantes de exposición al suelo, tales como la lixiviación de los contaminantes hacia las aguas superficiales y subterráneas, la migración de los contaminantes hacia el aire y su acumulación por las plantas.

Los metales, metaloides y no-metales con directrices de calidad de suelo desarrollada y establecida para la protección de la salud ambiental y humana tomando en cuenta la textura del suelo son: Arsénico, Bario, Cadmio, Cromo, Cobre, Plomo, Mercurio, Níquel y Selenio. Sin embargo, también hay que tomar en cuenta los criterios interinos de remediación para suelos de sitios contaminados que fueron desarrollados para asistir en el manejo ambiental de éstos para poder tener concentraciones de referencia mientras se desarrollan las directrices finales. Los parámetros inorgánicos incluidos son: Antimonio, Berilio, Boro, Cobalto, Molibdeno, Plata y Estaño (CCME, 2007).

La definición de cada uso del suelo se basa en condiciones genéricas y pone límites a las vías de exposición de los receptores.

Agrícola: donde la actividad primordial es el cultivo vegetal o la ganadería e incluye suelo agrícola que provee hábitat para la vida silvestre residente o de tránsito así como para la flora nativa.

Residencial/Parque: donde la actividad primordial es la residencial o la recreacional.

Comercial: donde la actividad primordial es la comercial no la residencial o la de manufactura, y no incluye suelos de cultivo.

Industrial: donde la actividad primordial involucra la producción, manufactura o construcción de bienes, y el acceso público a la propiedad está restringido.

5.2. Impacto ambiental de la actividad minera

La actividad minera en sus diferentes etapas (exploración, explotación y procesamiento) ocasiona impactos ambientales significativos tales como: degradación de ecosistemas y recursos naturales, afectación a cuencas hídricas importantes, la pérdida de los recursos forestales y la amenaza para la diversidad biológica (Castellón, 2010).

Entre los subproductos generados en el proceso minero se pueden mencionar: los relaves, escombros o desechos de roca, lixiviados y materiales desecho de

lixiviación. De estos subproductos, resultan prioritarios los relaves, los que se pueden definir como el desecho mineral sólido de tamaño entre arena y limo provenientes del proceso de concentración de la minería y que son producidos, transportados o depositados en forma de lodo (DGAAM, MINEM ,PERU), los cuales pueden contener sustancias tóxicas a niveles peligrosos de arsénico, plomo, cadmio, cromo, níquel y cianuro (ELAW, 2010)

Muchas empresas mineras, por conveniencia, simplemente descargan los relaves en los sitios más cercanos, incluyendo ríos y arroyos, cuyas peores consecuencias ambientales se han asociado con su descarga abierta (ELAW, 2010).

El suelo es alterado como resultado de las actividades mineras. Una de las anomalías biogeoquímico que se generan al momento de la extracción, es el aumento de la cantidad de micro elementos en el suelo, convirtiéndolos a niveles de macro elementos los cuales afectan negativamente la biota y calidad de suelo; estos afectan el número, diversidad y actividad de los organismos del suelo, inhibiendo la descomposición de la materia orgánica (Hernández Hernández, 2011)

5.3. Contaminación por metales pesados

Los metales pesados son aquellos elementos químicos que presentan densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 excluyendo a metales alcalinos y alcalinotérreos. Pero este término se suele utilizar en el lenguaje corriente con una connotación negativa, que hace referencia al riesgo de toxicidad que genera su presencia cuando supera determinados niveles en el suelo (Reid, 2001) y (Gràtao, 2005)

Hernández y Hernández (2011) clasifican a los metales pesados en dos grupos: los Oligoelementos o micronutrientes y los metales sin función biológica o Macro elementos. Los oligoelementos son necesarios en cantidades pequeñas para los organismos, pero tóxicos en concentraciones altas, incluyen: arsénico (As), Boro (B), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Manganeseo (Mn), Níquel (Ni), Selenio (Se) y Zinc (Zn). Por su parte, los macro elementos son

altamente tóxicos tales como: Bario (Ba), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Plomo (Pb), Antimonio (Sb) y Bismuto (Bi).

5.4. Metales y metaloides de interés

Los elementos de la tabla periódica se pueden agrupar en las categorías de metales, no metales y metaloides.

5.4.2. Metaloides

Los metaloides o semi metales son elementos que presentan propiedades de metales y no metales. En muchos aspectos, los metaloides se comportan como no metales, química y físicamente. Sin embargo su propiedad más importante, la conductividad eléctrica, se parece a los metales. Los metaloides tienden a ser semiconductores, pero conducen la electricidad en menor grado que los metales (Csuros y Csuros, 2002).

Arsénico

El As es un elemento no esencial para las plantas. En altas concentraciones interviene en los procesos metabólicos de las plantas, pudiendo inhibir el crecimiento y frecuentemente llegar a la muerte de la planta (Tu y Ma, 2002). Sin embargo, los niveles de As en vegetales, granos y otros cultivos alimenticios son bajos, aun cuando los cultivos se desarrollen en suelos contaminados (O'Neill, 1995).

Selenio

Las plantas pueden acumular selenio, en especial las llamadas plantas acumuladoras de selenio (por ejemplo, el astrágalo, *Stanleya*, *Haplopappus* y *Xylorhiza*) puede acumular concentraciones extremadamente altas de selenio (hasta por lo menos 5 mg / g de peso seco) (Salisbury y Ross 1985). Los cultivos agrícolas suelen tener una tolerancia mucho más baja para el selenio (Mikkelsen et al. 1989). Los EE.UU. Departamento de Energía (1998) los factores de absorción de la planta revisados (concentración en la planta / concentración en el suelo) para

el selenio a partir de 14 estudios (156 observaciones) en diversas hierbas y especies de cultivo. Consumo factores oscilaron entre 0.02 a 77 (media de 2,3), con el valor medio de 0,7 siendo adoptado para desarrollo de la guía (US DOE 1998; Efrogmson et al., 2001).

Se cree por algunos investigadores que el selenio puede tener un papel esencial en el crecimiento de plantas, pero esto todavía no se ha confirmado (Mikkelsen et al 1989; Efrogmson et al 1997a.). El mecanismo de la toxicidad de selenio parece estar relacionada a la sustitución de azufre, que es muy similar al selenio en sus propiedades químicas en los componentes celulares (Mikkelsen et al. 1989). Acumuladores de selenio parecen tolerar altas concentraciones de selenio ya que estas plantas formar ácidos principalmente seleno-aminoácidos que no son tóxicos a sí mismos, aunque esta sustitución para azufre en proteínas puede alterar el metabolismo normal, y no están incorporados a determinadas proteínas que podría llegar a ser tóxicos (Brown y shrift 1982; Bolardo 1983). Las indicaciones de toxicidad por selenio en plantas incluyen clorosis, enanismo y amarillamiento de las hojas (Efrogmson et al., 1997a).

Cobalto

La reacción del suelo influye en la solubilidad del cobalto, de modo que al aumentar el Ph hay una disminución de las formas solubles y por lo tanto la planta podrá absorber menos. Por ello, el Ph de suelo es el mayor responsable de la disponibilidad de estos elementos. El cobalto suele ser más asimilable para las plantas as decrecer el Ph del suelo. El incremento del Ph, parece reducir el contenido de Co en ryegrass (Coppenet el al., 1972)

Los suelos de textura fina parecen ser más ricos en cobalto que los de texturas más gruesas, puesto que las fracciones arcillosas son mucho ms ricas que las arenosas. Esta concentración por lo general es unas seis o siete veces mayor debido a que el Co^{2+} se libera de los materiales que lo contienen y es retenido en la forma intercambiable o formando complejos organominerales.

La disponibilidad de Co, como de otros metales pesados, esta también controlada por la adsorción en componentes del suelo tales como los silicatos de las arcillas, óxidos y materia orgánica

La materia orgánica del suelo, presenta una elevada afinidad por metales como Co, Cu, Ni, Pb y Zn, reaccionando con ellos en dos formas distintas:

- 1- Adsorbiéndolos, como parte del complejo de intercambio cationico.
- 2- Quelatandolos o complejandolos, de forma que favorece su disponibilidad metálica.

Se han realizados abundantes estudios acerca de la esenciabilidad del cobalto para las planta y de todos ellos se ha concluido que, a pesar de mostrar un efecto beneficioso para muchas especies (judías o algodón), en la actualidad, solo es considerado esencial para los organismos fijadores de nitrógeno, entre los que se encuentran las leguminosas y algunas algas del tipo verde-azuladas. La distribución de cobalto en las plantas varía según las especies (Kloke, 1980). En general, los niveles detectados son bajos en condiciones normales, menores de $1\mu\text{g Co mg}^{-1}$ sobre materia seca. Las plantas hortícolas, tales como lechuga y espinacas tienen contenidos relativamente elevados (0.6ppm) y varía ampliamente en plantas forrajeras (0.6-3.5ppm)

Talio

El talio está presente en el medio ambiente como consecuencia de procesos naturales y procedentes de fuentes debidas a actividades humanas. Está muy extendido en la naturaleza y se encuentra sobre todo en las menas de sulfuro de diversos metales pesados, aunque suele estar en concentraciones bajas. Sólo hay unas pocas zonas con concentraciones naturales de talio muy elevadas.

La producción industrial es muy pequeña (el consumo industrial en todo el mundo en 1991 fue de 10-15 toneladas/año). El talio y sus compuestos tienen una amplia variedad de aplicaciones industriales. El talio que se incorpora al suelo (debido, por ejemplo, al depósito del polvillo de ceniza) depende fundamentalmente del tipo de

suelo. La retención es máxima en suelos que contienen grandes cantidades de arcilla, materia orgánica y óxidos de hierro/manganeso. La incorporación de talio a complejos estables sólo produce concentraciones más elevadas en las capas superiores del suelo. La absorción del talio por la vegetación va aumentando a medida que el pH del suelo disminuye. En algunos suelos fuertemente ácidos se puede producir lixiviación de cantidades importantes de talio al terreno y las aguas superficiales próximas.

La mayor parte del talio disuelto en agua dulce suele ser monovalente. Sin embargo, en agua dulce muy oxidada y en la mayor parte del agua marina puede predominar la forma trivalente. El talio se puede eliminar de la columna de agua y acumularse en el sedimento mediante diversas reacciones de intercambio, formación de complejos o precipitación.

El talio afecta a todos los organismos, pero hay diferencias específicas de especies e incluso de variedades. Los diferentes compuestos inorgánicos de talio (I) y talio (III), así como sus compuestos orgánicos, pueden tener distinta toxicidad. El efecto más importante del talio en los microorganismos parece ser la inhibición de la nitrificación por las bacterias del suelo.

Los resultados de un estudio parecen indicar que la estructura de la flora microbiana se altera a concentraciones en el suelo comprendidas entre 1 y 10 mg/kg de peso seco, pero no se precisó la forma de talio utilizada en este experimento. Absorben talio todas las partes de las plantas, pero sobre todo las raíces. Una vez que ha penetrado en las células, se concentra de forma desigual en el citosol, probablemente unido a un péptido. Las concentraciones de talio que se observan en las plantas dependen de las propiedades del suelo (en particular el pH y el contenido de arcilla y materia orgánica), así como de la fase de desarrollo y de la parte de la planta. Se acumula en las zonas que contienen clorofila, pero lo hace en menor grado en las plantas resistentes al talio. Reduce la producción de oxígeno, posiblemente por acción directa sobre la transferencia de electrones en el fotosistema II. Su interferencia con los pigmentos se pone de manifiesto por la

aparición de clorosis. Por otra parte, en el mecanismo de la toxicidad parece intervenir una alteración de la absorción de oligoelementos. Afecta también al crecimiento, siendo más sensibles las raíces que las hojas o los tallos. Estos efectos se han descrito tras la exposición a formas monovalentes de talio con niveles de sólo 1 mg/kg de tejido vegetal seco.

En la mayoría de los estudios de los efectos en los organismos acuáticos se han utilizado compuestos solubles de talio monovalente. La concentración más baja notificada capaz de afectar a las especies acuáticas es de 8 µg/litro, con una reducción del crecimiento de las plantas. Los invertebrados se suelen ver afectados a concentraciones más bajas que los peces (los valores de la CL50 en 96 horas son de 2,2 mg de talio/litro para los dáfnidos y de 120 mg/litro para un pez de agua dulce). El valor más bajo de la CL50, notificado tras la exposición durante unos 40 días, fue de 40 µg/litro para los peces.

Muchos casos de intoxicación por talio de la flora y fauna silvestres se han debido a su aplicación en gran escala como rodenticida. En animales que se alimentan de semillas y en depredadores afecta gravemente sobre todo al SNC y al aparato gastrointestinal. Estos mismos efectos se pueden observar en los animales de granja. A esto hay que añadir que el talio provoca una pérdida de plumas dorsales en los patos, salivación de la nariz y la boca del ganado vacuno y reducción del crecimiento de los pollos de asar, las gallinas ponedoras, las ovejas y los novillos (Martínez et al, 2007).

5.4.1 Metales

Se consideran entre los metales pesados elementos como el plomo, el cadmio, el cromo, el mercurio, el zinc, el cobre, la plata, entre otros, los que constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos de ellos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, organismos del suelo, plantas y animales (Spain *et al.*, 2003),

Plomo

El plomo varía en los horizontes superficiales del suelo en un rango de 3 a 189 mg kg⁻¹, mientras que los valores medios para tipo de suelo varían entre 10 a 67 mg kg⁻¹ con un promedio de 32 mg kg⁻¹. La acidez del suelo puede aumentar la solubilidad de Pb, pero su movilización generalmente es más lenta que su acumulación en las capas de suelo ricas en materia orgánica. La localización característica del Pb cerca de la superficie del suelo se relaciona principalmente porque esta es la capa que contiene más materia orgánica. (Davis, 1997)

La barrera suelo-planta limita la trasmisión de Pb a la cadena alimenticia, ya sea por procesos de inmovilización química en el suelo (Laperche et al., 1997) o limitando el crecimiento de las plantas antes que el Pb absorbido alcance niveles que puedan ser dañinos para el ser humano. La absorción y traslocación de Pb por deposición atmosférica en las hojas puede llegar a ser un 73 a 95 % del contenido de Pb total en plantas de hojas anchas como la espinaca y en los cereales (Kabata- Pendías, 2000). En las plantas el Pb se almacena principalmente en las raíces, siendo mínimo su presencia en las estructuras reproductivas. (Kabata- Pendías, 2000)

Cobre

En el suelo los iones de Cu presentan una alta afinidad para formar complejos con la materia orgánica. De esta forma, es frecuente que la materia orgánica del suelo sea el factor más importante en determinar la biodisponibilidad de Cu (Del Castillo et al., 1993). Los mecanismos de absorción de Cu por las plantas aún no están del todo claros, ya que se ha observado una probable absorción pasiva de Cu, especialmente cuando la concentración de la solución en que crecen las plantas está en el rango tóxico del metal, aun cuando existen numerosas evidencias respecto a su absorción activa (Kabata-Pendias, 2000). En los tejidos de la raíz, el Cu se encuentra casi completamente en formas complejas, sin embargo, es muy probable que el metal ingrese a las células de las raíces en formas disociadas a tasas diferentes según la especie del metal. Se ha observado una alta capacidad

de los tejidos de las raíces para almacenar Cu tanto en condiciones de deficiencia como en exceso de Cu en el medio.(Liao et al., 2000a; Liao et al., 2000b)

El Cu tiene una movilidad relativamente baja respecto a otros elementos en las plantas, permaneciendo en los tejidos de las raíces y hojas hasta su senescencia. De esta forma, los órganos jóvenes generalmente son los primeros en desarrollar síntomas de deficiencia de Cu. La movilidad del Cu dentro de los tejidos de las plantas depende directamente del nivel de Cu en el sustrato. La acumulación de Cu en órganos reproductivos varía ampliamente con la especie. Las mayores concentraciones de Cu en órganos reproductivos se han encontrados en el embrión y la cubierta seminal de granos de cereales. Pérez et al. (2004) señalan que la relación $\frac{\text{metal en grano y en hoja}}{\text{metal cambiante en suelo}}$ decrece en orden $\text{Zn} \gg \text{Cu} \gg \text{Pb} \gg \text{Cd}$, siendo los valores más altos para hojas, que para granos. En el trigo (*Triticum aestivum*) el exceso de Cu reduce el transporte de Zn en el floema debido a que el Cu y Zn compiten por los mismos sitios de transporte (Pearson et al., 1996).

Cromo

No se ha informado que el Cr como metal puro (valencia cero) presente efectos tóxicos al ambiente o al ser humano, la toxicidad aguda y crónica por Cr es causada principalmente por los compuestos de Cr hexavalente (Cunat, 2002), siendo esta la forma más disponible, pero inestable en el suelo, para la absorción por las plantas. Tampoco existe evidencia que el Cr es un elemento esencial para el metabolismo de las planta(Cunat, 2002).

La mayoría de los suelos contienen cantidades significativas de Cr, pero su disponibilidad para las plantas es limitada. Los cambios de pH y los exudados de las raíces pueden influenciar el estado de oxidación del Cr y con esto aumentar o disminuir la cantidad de Cr disponible para las plantas (James, 2002)

Zinc

El Zn es un elemento esencial a las plantas, participa en varios procesos metabólicos y es un componente de varias enzimas. El contenido medio de Zn en la superficie de los suelos de diferentes países varía de 17 a 125 mg kg⁻¹. La movilización y lixiviación del Zn es mayor en suelos ligeramente ácidos al aumentar la competencia con otros cationes por los sitios de intercambio. La solubilidad y disponibilidad de Zn se correlaciona negativamente con la saturación de Ca y compuestos fosforados presentes en el suelo. El mecanismo mediante el Zn es absorbido por las raíces no ha sido definido con precisión. Sin embargo, el ingreso predominante es como Zn hidratado y Zn +2, aun cuando puede ser absorbido como complejos y quelatos orgánicos (Kabata-Pendias, 2000).

En la planta es frecuente que las raíces contengan mucho más Zn que la parte aérea. En condiciones de exceso, el Zn se puede acumular en los órganos aéreos de la planta. (Acevedo et al, 2005)

Cadmio

El Cd es uno de los metales traza del suelo más solubles (Jansson, 2002) y peligrosos, debido a su alta movilidad y que aún pequeñas concentraciones tiene efectos nocivos en las plantas. Es soluble en estados oxidados. Se ha observado que las plantas de lechuga traslocan mucho más Cd a hojas y tallos que otros cultivos como la Poaecea llamada pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L) (Jarvis et al., 1976). Las hojas nuevas de lechuga y espinaca tienen mayor acumulación de Cd que las hojas viejas (McKenna et al., 1993). En plantas de tomate el Cd se trasloca fácilmente a las partes aéreas.

En las plantas, los síntomas más generales de toxicidad por Cd son atrofia y clorosis. La clorosis puede aparecer debido a una interacción directa o indirecta con el Zn, el P y el Mn. Altos contenidos de Cd en el medio de crecimiento inhiben la absorción de Fe en las plantas. Aun cuando los efectos de Cd varían a nivel de especie, e incluso en general el Cd interfiere en la absorción y transporte de varios elementos (Ca, Mg, P y K) y del agua (Das et al., 1998).

Mercurio

La acumulación de Hg en el suelo se encuentra controlada principalmente por la formación de complejos orgánicos y por la precipitación. La movilidad del Hg requiere procesos de disolución y degradación biológica y química de los compuestos orgánicos de mercurio, especialmente hacia formas metiladas del Hg elemental. En condiciones de suelo aeróbicas dominan especies catiónicas de Hg, en condiciones de suelo anóxicas es probable que existan complejos aniónicos de Hg y S, mientras que los compuestos de Hg metilados predominan en suelos de condiciones redox intermedias

La absorción de Hg desde el suelo a las plantas es baja constituyéndose en una barrera para la translocación desde las raíces a las partes aéreas de las plantas (de esta forma, altas concentraciones de Hg en el suelo producen solo aumentos moderados en los niveles del metal en las hojas por absorción desde el suelo. Petra y Sharma, 2000)

El Hg aerotransportado contribuye significativamente al contenido de este metal en los cultivos y por esta razón, el consumo humano y animal (Petra y Sharma, 2000). Una parte de Hg atmosférico es absorbido directamente por las hojas de las plantas, el que pasa al humus del suelo por abscisión foliar.

Petra y Sharma (2000), informaron que la incorporación de vapor de Hg por las hojas de plantas C3 (avena, cebada y trigo) fue cinco veces mayor que la absorción por las hojas de las especies C4 (maíz, sorgo y digitalia). Los daños a las semillas de cereales por compuestos orgánicos de Hg, se han caracterizado por una germinación anormal y una hipertrofia característica de las raíces y el coleoptilo.

Aluminio

El aluminio es el factor más limitante del crecimiento y productividad en los suelos ácidos del mundo, que abarcan más de 40% de la superficie agrícola. Alrededor de 85% del territorio colombiano está compuesto por suelos ácidos, en los cuales la productividad de plantas se restringe debido a la acidez del suelo y la toxicidad por

aluminio. En suelos minerales ácidos con pH inferior a 5,5 gran proporción de los sitios de intercambio de las arcillas está ocupado por aluminio, en donde este reemplaza otros cationes como el Mg^{2+} y el Ca^{2+} y simultáneamente se adsorbe a los fosfatos. El efecto de competencia del aluminio sobre la toma de calcio y magnesio justifica que las relaciones Ca/Al , Mg/Al o $(Ca+Mg+K)/Al$ en el suelo o en las soluciones nutritivas son mejores parámetros para predecir el riesgo de deficiencia de bases inducidas por aluminio, que la concentración de alguno de los elementos en forma individual. El efecto inicial del estrés por aluminio es la inhibición del crecimiento radicular, además, la acumulación de aluminio indica que la sensibilidad al elemento ocurre en el ápice radicular; los mecanismos de resistencia a aluminio están confinados principalmente en el ápice de la raíz; la producción de calosa es inducida en células apicales radiculares. Algunas posibilidades de corrección del estrés por aluminio son: la aplicación de materia orgánica, la colonización con micorrizas, la aplicación de ácidos orgánicos, la aplicación foliar de fósforo, el encalado, la selección de plantas tolerantes y la producción de plantas transgénicas tolerantes (Casierra y Aguilar, 2007).

Por encima de 15% de la corteza terrestre está compuesta por Al_2O_3 , el cual es tan poco soluble en suelos neutros o alcalinos que no alcanzaría concentraciones tóxicas para los vegetales; sin embargo, con la reducción del pH del suelo se incrementa la solubilidad del aluminio hasta llegar a ocupar más de la mitad de los sitios de intercambio iónico del suelo (Wallnöfer y Engelhardt, 1995). La concentración de Al^{3+} en la solución del suelo a pH menor de 5,0 se encuentra en el rango de 10 - 100 μM , e incluso, en suelos minerales de ecosistemas forestales, la concentración de Al^{3+} soluble puede alcanzar valores cercanos a 1.000 μM ; el aluminio se reporta como el factor más limitante de la producción agrícola en suelos ácidos, los cuales comprenden alrededor del 40% de la superficie cultivable en el mundo (Matzner y Prenzel, 1992; Ma, 2000).

La flora y fauna del suelo también sufren las consecuencias de la toxicidad por aluminio. Es así como en un pH en el rango 3,5–4,0, se encuentran por lo general

pocas poblaciones de anélidos en el suelo y la cantidad de micorrizas es muy reducida; además, muchos grupos de bacterias y actinomicetos reducen su actividad y desarrollo cuando el pH del suelo está por debajo de 5,5.

El aluminio puede ser tomado por la planta con gran rapidez principalmente cuando el suelo tiene una reacción ácida. Las reacciones químicas del aluminio en el suelo son extraordinariamente complejas y diversas, y comprenden principalmente hidrólisis, polimerización y reemplazo de elementos. Algunos monómeros resultantes de las reacciones de hidrólisis de los compuestos de aluminio han sido reconocidos como fitotóxicos, sin embargo, los reportes sobre el efecto del hidróxido de aluminio en los vegetales son contradictorios. Las reacciones de hidrólisis del aluminio semejan la reacción de un ácido fuerte, en la cual se liberan iones protones (Wallnöfer y Engelhardt, 1995).

Bario

Se ha reportado que el bario inhibe el crecimiento y los procesos celulares en los microorganismos y que además afecta el desarrollo de las esporas germinales. No se han reportado efectos tóxicos en plantas acuáticas debidos al bario en concentraciones normales en el agua. (Guía para la salud y la seguridad, 1995)

Plata

La bioacumulación de plata depende de las concentraciones de exposición y la especiación química y no está asociada a efectos fisiológicos.

5.5. Actividad minera en la zona Central de Nicaragua

En la actualidad la actividad minera en Nicaragua se encuentra orientada. Principalmente a la minería metálica (oro y plata), no metálica (arena, piedra pómez, cantera). La exploración y explotación de material aurífero, es desarrollada por empresas extranjeras que ejecutan sus operaciones de Pequeña y mediana escala en los municipios de Bonanza, La Libertad, Larreynaga, Santo Domingo, entre otros. Por otro lado, se da la extracción rústica de minería artesanal, siendo ejecutada por

cooperativas o simplemente familias, que se ubican en paralelo a las localidades de la extracción industrial, las cuales realizan esta actividad sin las medidas de seguridad respectivas, además de contar con poco o nulo financiamiento y capacitación técnica (Espinoza y Espinoza, 2005).

Santo Domingo presenta clima del tipo sabana tropical con precipitaciones anuales de 1100 a 2000 mm; y con temperaturas promedio de 25° a 27°C, con relieve altamente montañoso, alcanzando altura máximas de 505 msnm. El municipio colinda al norte con el municipio de La Libertad; al sur con los municipios de Sto. Tomás y San Pedro de Lóvago; al este con el municipio del Ayote y al oeste con el municipio de la Libertad (Espinoza y Espinoza, 2005).

Los principales ríos del municipio de Santo Domingo son: Siquia, El Sucio (Afluente del Siquia), Timulí, y el Guineal. El Río Artiguas corre al centro de la ciudad (Espinoza y Espinoza, 2005).

Debido al suelo, subsuelo, a la pluviosidad de aguas, clima, riqueza hidrográfica y las montañas proveen al municipio una variedad y abundancia en recursos naturales. En el subsuelo se encontraban grandes yacimientos de cuarzo mineralizado en oro y plata. Por ello, en los alrededores del casco urbano la actividad minera es la más importante (Espinoza y Espinoza, 2005).

En el municipio de Santo Domingo la actividad minera es considerada el rubro principal de la economía, además de la agricultura y ganadería. Todas las actividades de contaminación puntual se ubican muy cerca del casco urbano en las márgenes de los ríos, su naturaleza es diversa, así mismo las sustancias contaminantes, las cuales pueden potenciar el riesgo de contaminación por sinergia al mezclarse las descargas de las industrias (Espinoza y Espinoza, 2005).

(Espinoza y Espinoza, 2005) Explican que las actividades de beneficio de oro, realizadas en Santo Domingo son llamadas pequeña minería, y minería artesanal. La primera es definida, en artículo 40 de la ley de minas (Ley 387) como el aprovechamiento de los recursos mineros que realizan personas naturales o jurídicas, que no exceden una capacidad de extracción y/o procesamiento de 15

toneladas métricas por día; y la segunda, es definida en el artículo 41 de la misma ley, como el aprovechamiento de los recursos mineros que desarrollan personas de manera individual o en grupos organizados, mediante el empleo de técnicas exclusivamente manuales.

Las actividades a escala artesanal, involucran en su proceso de extracción un mecanismo de amalgamiento del mineral (oro) junto a un agregado químico, principalmente mercurio, aunque en algunas etapas se puede mezclar con cianuro para aumentar la eficiencia de extracción. El producto residual de la molienda conocido como “lamas” se deposita en las cercanías del lugar de molienda también conocidas como “rastras” sin ningún tratamiento y expuestos a procesos de meteorización, como la escorrentía pluvial, que arrastra el sedimento a fuentes de aguas y otros reservorios, como suelo agrícola, contaminándolos (Picado, 2010).

En Santo Domingo se desempeña la actividad minera por la empresa trasnacional con operaciones industriales, a quien se le otorgó la concesión minera por un período de veinticinco años, y el segmento artesanal de pequeña y mediana escala, actividad desempeñada por los pobladores (Espinoza y Espinoza, 2005).

En el lugar existe una Empresa Asociativa de Pequeños Mineros que manejan una pequeña Planta procesadora de mineral aurífero, por el método de amalgamación, con 182 socios y procesan alrededor de unas 18 toneladas por día cerca de 60 onzas de producción mensual. Poseen una concesión de unas 650 hectáreas (Productivos, 2008).

En el municipio se generan una serie de contaminantes producto de las labores mineras, además de las sustancias que se utilizan para el proceso. Estos contaminantes agilizan la disolución de metales que van a parar junto con los demás desechos a los cauces de los ríos entre ellos el río Sucio directamente en el caso de Santo Domingo. Por ello, en diversos estudios se ha encontrado altas concentraciones de metales pesados en diversos puntos del área. Esto no es solamente producto de las actividades de explotación minera, sino que responde al

patrón de formación geológica de la subcuenca donde pueden distinguirse amplias áreas mineralizadas (CIRA/UNAN-Managua, MARENA, & INIFOM, 2006)

5.6. Alternativas de remediación de sitios contaminados por metales pesados

En la actualidad existen distintas técnicas de remediación o descontaminación de sitios contaminados por metales pesados. Las alternativas de remediación de suelos pueden clasificarse entre técnicas de tratamiento físico-químico y tratamientos biológicos. Entre las técnicas fisicoquímicas se puede mencionar la técnica de “lavado ex-situ”, flushing (técnica in situ), adición de enmiendas o químicos. Entre las técnicas biológicas mayormente empleadas para remediar sitios contaminados por metales pesados están las basadas en tratamientos de recuperación, que disminuyen la toxicidad de los metales tóxicos a través de la actividad biológica natural mediante reacciones que forman parte de sus procesos metabólicos (Ortiz, Sanz Garcia, Dorado Valiño, & Villar Fernandez, 2008).

Entre las técnicas biológicas empleadas en las últimas décadas están la fitorremediación (phyton– planta y remedium-que hace alusión al medio que se toma para reparar un daño o inconveniente), La fitorremediación es una tecnología ecológica emergente para la remediación de sitios contaminados. Se basa en el uso de plantas para eliminar los contaminantes del medio ambiente y se propone como una alternativa respetuosa rentable y ambiental a los métodos convencionales. Entre las diversas técnicas de fitorremediación, la fitoextracción está recibiendo cada vez más atención, sobre todo para la limpieza in situ de suelos y aguas contaminados por metales y metaloides (Bettiol, y otros, 2012). La fitoextracción hace uso de plantas que tienen la capacidad de absorber los metales a través del sistema de la raíz y concentrarlos en los brotes; la biomasa aérea de metal enriquecido puede ser cosechada y eliminarse de forma segura.

Sin embargo debido a que la fitoextracción depende de la planta, las condiciones del sitio deben de ser capaz de mantener la producción de la planta y el contaminante accesible a las raíces para la absorción. Además los suelos con alto

nivel de contaminante pueden inhibir el crecimiento de la plantas y/o prolongar significativamente la cantidad de tiempo requerida para la remediación (Schnoor, 2002) citado por (Kertulis & Marie, 2005)

La biolixiviación está basada en la capacidad de los microorganismos para transformar compuestos sólidos en elementos solubles y extractables. Las ventajas de la tecnología de biolixiviación incluyen condiciones de reacción suaves, bajo consumo de energía, proceso simple, bajo impacto ambiental y es adecuado para el bajo grado de colas mineras, residuos y suelos contaminados (Deng, Chai, Yang, Wang, & Shi, 2012).

En este aspecto, enfocados en las técnicas biológicas, surge el término bio-transformación de metales realizados principalmente por microorganismos. Según (Gadd, 2004) los microorganismos están estrechamente relacionados con la biogeoquímica de los metales a través de una serie de procesos que determinan su movilidad y biodisponibilidad. Se debe señalar, que los microorganismos no pueden degradar ni destruir metales, pero si pueden controlar la especiación y transformación a formas más o menos tóxicas mediante mecanismos de oxidación, reducción, metilación, dimetilación, formación de complejos, biosorción y acumulación intracelular.

5.7. Fitorremediación

En las técnicas de fitorremediación, las plantas actúan como trampas o filtros biológicos que descomponen los contaminantes y estabilizan las sustancias metálicas presentes en el suelo y agua al fijarlos en sus raíces y tallos, o metabolizándolos tal como lo hacen los microorganismos para finalmente convertirlos en compuestos menos peligrosos y más estables, como dióxido de carbono, agua y sales minerales (Peña, 2001)

En la fitorremediación se identifican varios tipos de procesos de remediación que varían según las partes de la planta que participan o los microorganismos que contribuyen con la degradación de los contaminantes. Sin embargo, la fitorremediación también tiene sus desventajas. El principal inconveniente de esta técnica está relacionado con las características de las plantas, ya que deben estar capacitadas para: a) tolerar la toxicidad de los metales pesados en su parte aérea las condiciones del suelo y el clima deben de favorecer su rápido crecimiento y desarrollo, b) tener elevada producción de biomasa, c) sistema radical bien desarrollado, d) ser de fácil cultivo (Pilon & Smits, 2005).

Esta técnica también está limitada por la profundidad de la raíz de las plantas, que debe ser capaz de alcanzar el contaminante. Además, es un método de remediación lento si consideramos, por ejemplo, que la rehabilitación de un suelo mediante la acumulación de metales en las plantas a menudo lleva años. Otro factor a considerar es la biodisponibilidad de los contaminantes, ya que solo una fracción de éstos está disponible. Sin embargo, es muy importante considerar que la fitorremediación no es precisa, de esta manera se pueden combinar con otras tecnologías (Pilon & Smits, 2005).

Entre las diversas técnicas de fitorremediación, la fitoextracción está recibiendo cada vez más atención, sobre todo para la limpieza in situ de suelos y aguas contaminados por metales y metaloides. Fitoextracción hace uso de plantas que tienen la capacidad de absorber los metales a través del sistema de la raíz y concentrarlos en los brotes; la biomasa aérea de metal enriquecido puede ser cosechada y eliminarse de forma segura. Esta técnica tiene varias ventajas sobre otras técnicas de rehabilitación, como la excavación y eliminación en vertederos ejemplo:, bajo costo, bajo consumo de energía, control de la erosión del suelo, la conservación o incluso mejora la calidad del suelo; es particularmente adecuado para la remediación de áreas grandes con suelos caracterizados por una contaminación difusa de nivel medio, y puede aplicarse potencialmente en sitios remotos. Además, se supone que tiene una aceptación pública más alto, debido a su impacto positivo en el paisaje en el curso de las aplicaciones a largo plazo. Una

de las limitaciones de esta técnica se encuentra justo en los largos tiempos requeridos para la remediación, en relación con los ciclos de crecimiento de las plantas y depende de su eficacia de la extracción y producción de biomasa (Bettiol, y otros, 2012).

5.8. Estrategias básicas de las plantas para crecer sobre sitios contaminados

Los nutrientes vegetales son aquellos elementos químicos que son necesarios para el crecimiento y el desarrollo normal de las plantas. Estos nutrientes se toman del suelo a través de las raíces o del aire a través de las hojas. Carbono, oxígeno e hidrógeno, constituyen la mayor parte del peso seco de las plantas. Estos elementos provienen del CO₂ atmosférico y del agua. Les siguen en importancia cuantitativa el N, K, Ca, Mg, P y S los cuales se absorben desde el suelo. Los elementos más importantes para el crecimiento de las plantas se clasifican de la siguiente manera: los macronutrientes como C, H, O, N, P, K, S, Ca y Mg aparecen en las plantas en concentraciones superiores a lo 0,1% y los micronutrientes como Fe, Mn, B, Zn, Cu, Co, Mo y Cl que están generalmente presentes en el suelo en cantidades suficientes y las plantas los necesitan en dosis menores, con una concentración inferior a 0,1% (Bargagli, 1998).

En general un elemento se considera esencial cuando tiene influencia directa sobre el metabolismo de la planta y no puede ser reemplazado por otro en esa función bioquímica específica. Los ET esenciales son B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo y Zn y son considerados oligoelementos o micronutrientes porque se requieren en pequeñas cantidades, necesarias para que los organismos completen su ciclo vital (aunque a concentraciones elevadas pueden resultar tóxicas para las plantas). Sin embargo, concentraciones elevadas de elementos como Cd, Pb, Tl, Ga, Sb, Bi y Hg (elementos sin función biológica conocida) son siempre tóxicas para las plantas (Adriano, 1986; Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Markert, 1992). Para superar el problema de los ET existen diferentes mecanismos de resistencia o tolerancia que pueden variar en función de la especie vegetal, de la fase de crecimiento en que se

encuentre, órgano o tejido, elemento traza, tiempo de acción, concentración y muchos otros factores exógenos y endógenos (Siedlack y col., 2001).

Según Baker (1981) las plantas superiores se clasifican en tres grandes grupos, dependiendo de los mecanismos de resistencia a los ET:

a) Plantas excluidoras: previenen la entrada de metales o mantienen baja y constante la concentración de estos sobre un amplio rango de concentración de metales en el suelo, principalmente restringiendo la acumulación de los metales en las raíces (relación metal en la parte aérea: metal en la raíz < 1).

b) Plantas acumuladoras: acumulan los ET en su parte aérea incluso a bajas concentraciones, gracias a un transporte eficaz desde la raíz (relación metal en la parte aérea: metal en la raíz > 1). Se trata de plantas hiperacumuladoras, capaces de absorber altos niveles de contaminantes y concentrarlos en raíces, tallos y hojas (Raskin y col. 1994; Cunningham & Ow, 1996). Algunas son capaces de acumular ET a concentraciones extremadamente elevadas: más del 1% para Mn y Zn, 0,1% para Cu, Co, Cr, Ni y Pb, 0,01% para Cd, y 0,0001% para el Au (Baker y Brooks, 1989). En general este tipo de plantas pueden acumular un determinado metal y no varios. Es sabido que la tasa de remoción de metales depende de la biomasa cosechada y de la concentración de metal en ésta última. En especies comunes, no-acumuladoras, el bajo potencial para la bioconcentración de metales es frecuentemente compensado por la producción de una biomasa significativa (Ebbs y col. 1997).

c) Plantas indicadoras: la concentración interna del metal refleja su concentración externa, mediante la regulación de la absorción y transporte de los metales a la parte acumulándolos en sus tejidos y generalmente reflejan el nivel de metal en el suelo (Ghosh & Singh, 2005). (relación metal en la parte aérea: metal en la raíz = 1).

Tabla 1. Plantas hiperacumuladoras identificadas y las familias donde frecuentemente pueden encontrarse (Baker,2000).

Elemento	Número de especies	Familias
Cd	1	Brassicaceae
Co	28	Lamiaceae, Scrophulariaceae
Cu	37	Cyperaceae, Lamiaceae, Poaceae, Scrophulariaceae
Mn	11	Apocynaceae, Cunoniaceae, Protaceae
Ni	300	Violaceae, Euphorbiaceae, Brassicaceae
Se	19	Fabaceae, Brassicaceae
Ti	2	Brassicaceae
Zn	16	Brassicaceae, Violaceae
As	1	Pteridaceae

5.9 Plantas presentes en ambientes contaminados por metales pesados

Los suelos contaminados por metales albergan una amplia colonización de plantas durante muchos años, incluso algunas áreas pueden albergar una amplia y diversa comunidad de especies, la cual puede ser o no fitogeográficamente distinta de la vegetación circundante en suelos no contaminados (Baker, 1987).

5.9.1 Familia Poaceae (R. Br.) Barnhart

Hierbas anuales o perennes, raramente arbustos o árboles (bambúes), cespitosas, rizomatosas o estoloníferas; tallos erectos a reptantes, raramente escandentes, cilíndricos, raramente aplanados, articulados, fistulosos o sólidos en los entrenudos, sólidos en los nudos, generalmente ramificados en la base, a veces en los nudos superiores; ramas con una hoja subyacente, con una vaina sin lámina (profilo) 2carinada en el nudo inferior; perennes con tallos estériles (brotes, renuevos basales) y tallos con flores entremezclados, anuales con sólo tallos con flores. Hojas solitarias, 2-seriadas, alternas, basales y caulinares, típicamente consistiendo de una vaina, lígula y lámina; vainas con los márgenes generalmente libres y traslapándose o menos frecuentemente connadas, generalmente un borde membranáceo, en el envés en la unión de la vaina y la lámina; láminas generalmente lineares, a veces lanceoladas a ovadas, aplanadas a teretes, paralelinervias, raramente con nervaduras transversales, generalmente pasando gradualmente a la vaina, a veces amplexicaules o con aurículas falcadas, a veces angostadas en un pseudopecíolo o articuladas con la vaina. Inflorescencia compuesta de espiguillas dispuestas en panículas o en espigas o racimos, éstos solitarios, digitadas, o dispuestas a lo largo de un eje central, generalmente terminales, estigmas generalmente plumosos. Fruto gealmente una cariopsis con un pericarpo delgado adnado a la semilla, raramente el pericarpo libre, o el fruto aqueniforme o carnosos; cariopsis comúnmente adnada a distintas partes de la espiguilla, o menos frecuentemente a partes de la inflorescencia; semilla con endosperma amiláceo, un embrión abaxial, y un hilo adaxial marcando la conexión entre pericarpo y semilla. (Pohl, Gerrit Davidse y Richard W.)

Familia cosmopolita con casi 660 géneros y 10000 especies, también conocida con el nombre tradicional Gramineae; 100 géneros y 342 especies se conocen de Nicaragua y 5 géneros y 46 especies adicionales se esperan encontrar.

5.9.2 Morfología de la especie de interés

Paspalum Conjugatum es una especie botánica de gramínea tropical a subtropical, perenne de la familia de las Poaceae.

5.9.3 *Paspalum conjugatum* P.J.

Bergius

Nombre común: zacate amargo

Estoloníferas perennes, tanto como 2 metros de largo, pero por lo general lías de 1 metro, a menudo decumbente en la base y raíces en los nudos más bajos, simples o escasamente ramificados,



Imagen 1. Planta adulta de *Paspalum Conjugatum*.

estolones largos, frondoso poco con erecto o ascendente ramas florecientes, los nodos generalmente conspicuamente pilosa, vainas del culmo suelta, comprimido, pubescentes en el cuello, la ciliante márgenes, los de los estolones cortos y anchos; cuchillas mayoría de 8-12 cm. de largo, 5.15 mm, de ancho, delgado, algunas veces glabras o pubescentes, los márgenes escabrosa o corto ciliado, racimos 2, conjugado, difundir ampliamente, 4 - 15 cm de largo; espiguillas 1,4 - 1,8 mm. Largo, ovadas, minuciosamente señalado, al margen de la gluma papilosa - ciliado con pelos finos largos. (Flora of Guatemala. Part II)

Parece ser tolerante con las perturbaciones y la contaminación, y se ve a crecer y colonizar hábitats desnudos secundarios, siempre que con humedad disponible (IUCN, 2013).

El porcentaje de germinación generalmente bajo y su floración comienza 4-5 semanas después de la emergencia de las plántulas y florece durante todo el año. Nuevos brotes se convierten en cada nodo raíz (IUCN, 2013).

A veces es utilizada como césped. Es forrajera, pero, hay que mantenerla bajo forrajeo intensivo para no permitir la maduración de semillas, porque después de la

floración baja su valor. Las semillas tienden a adherirse a la garganta del ganado y a atragantar a los animales. También se reportan usos medicinales.

5.10 Microorganismos de lixiviación-Hongos

Muchas especies de hongos han sido reportados como aptos para biolixiviar metales pesados en suelos, incluyendo el *Aspergillus niger*, *Penicillium purpurogenum*, *Rhodotorula rubra*, *Acidithio*, *Bacillusthiooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Deng, Chai, Yang, Wang, & Shi, 2012).

5.11 Hongos Micorrízicos

Muchas especies microbianas del suelo realizan actividades que benefician a las plantas (Robles & J.M.Barea, 2004). Entre estas se encuentran los hongos micorrízicos y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Diaz, Ferrera-cerrato, & Alcàntar, 2001). La simbiosis micorrízica se establece entre las raíces de las plantas y algunos hongos del suelo.

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman una simbiosis mutualista con las raíces de aproximadamente 80% de las plantas vasculares (Smith & I, 2003). Los HMA son simbiosiontes obligados que dependen del aporte de carbono derivado de la planta hospedante para satisfacer sus requerimientos energéticos (Alarcòn, González, & R.Ferrera, 2003).

A su vez los HMA aportan a la planta nutrientes de las hifas del hongo, lo que le permite tener acceso a recursos distantes al sistema radical (Bago, Azcón, Shachar, & P, 2000). Las hifas extraradicales de los HMA en la absorción de hasta 80 % de fósforo, 10 % de potasio, 25 % de zinc, 60 % de cobre y 25 % de nitrógeno de la planta (Allen, Querejeta, Egerton, & K, 2003)

Esto es grandemente debido a las hifas externas que absorben fósforo hacia las zonas de deleción alrededor de las raíces y en los pelos de las raíces, y transportándolo a los tejidos de las raíces de sus hospederas para incrementar el crecimiento y reproducción de la planta (Abdel, 2001).

VI. Preguntas de investigación

¿Cómo influye la interacción de *Paspalum conjugatum* con los hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación (Factor de bioconcentración raíz/suelo) y de traslocación (Factor de traslocación tallo+hojas/raíz) de los 13 metales y metaloides presentes en los sedimentos contaminados?

¿Cómo influye la interacción de *Paspalum conjugatum* con los hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre la lixiviación de los 13 metales y metaloides presentes en los sedimentos contaminados?

¿Cómo influyen los diferentes hongos autóctonos (del suelo y micorrízicos) y las texturas de sustrato sobre el crecimiento y viabilidad de *Paspalum conjugatum*?

VII. Diseño metodológico.

7.1. Tipo de estudio

El estudio es analítico de tipo experimental y de corte transversal ya que se manipuló como variable independiente en condiciones controladas (consorcio microbiano fúngico inoculado y textura del sustrato) durante el período de exposición de las plantas de *P. conjugatum* para determinar su crecimiento y capacidad de acumulación y traslocación de los metales y metaloides presentes en el sustrato en el que estuvieron sembradas. Fueron sembrados los 35 individuos de *Paspalum conjugatum* expuestos durante 90 días para determinar su efecto sobre los patrones de acumulación, traslocación y lixiviación de los metales y metaloides así como sobre indicadores de crecimiento y viabilidad de las plantas.

Área de estudio

El área de estudio es el Botadero “La Estrella” (Coordenadas N 1357522 E: 0709570) que está ubicado en los alrededores del Plantel del mismo nombre, en Santo Domingo, Chontales.

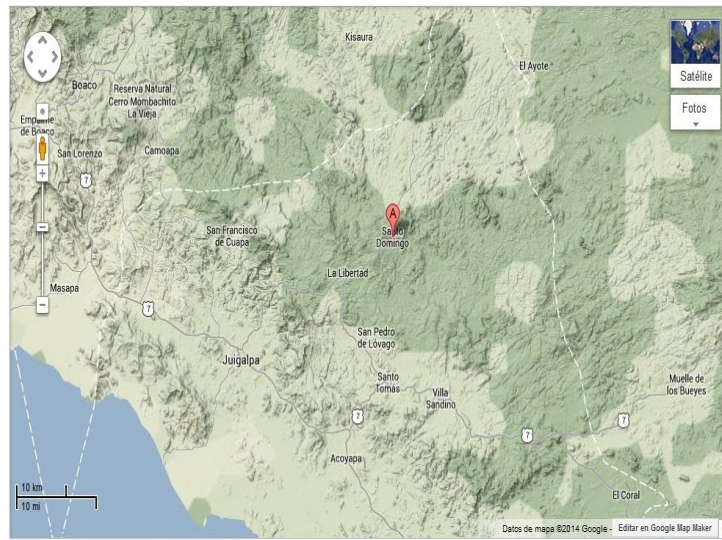


Imagen 2. Ubicación del área de estudio.

7.2. Alcance del problema de investigación

El presente estudio describe la influencia positiva o negativa ejercida por la interacción entre las plantas de *P. conjugatum* y diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación, traslocación y lixiviación de los metales y metaloides de interés en el sustrato contaminado.

7.3. Universo

El universo de estudio lo conforman todo el sedimento contaminado del Botadero “La Estrella” y las plantas de *P. conjugatum* y hongos del suelo y micorrízicos que habitan sobre él.



Imagen 3. Área de muestreo, Botadero la Estrella.

7.4. Muestra.

La muestra la conforman una alícuota de 50 kg del sedimento minero contaminado y 30 plantas adultas de *P. conjugatum* que habitaban sobre él de donde se obtuvieron los estolones utilizados para producir las 35 plántulas experimentales. Del sedimento se aislaron las comunidades autóctonas de hongos del suelo y de las raíces de las plantas las de los hongos micorrízicos que posteriormente fueron identificadas y cultivadas en el Laboratorio para ser inoculadas en los tratamientos experimentales.



Imagen 4. Sedimento en el Botadero la Estrella.

7.5. Operacionalización de variables de estudio.

En la Tabla 2 se presenta la operacionalización de las variables de estudio.

Tabla 2. Operacionalización de variables de estudio.

Objetivos específicos	Variables	Indicadores	Instrumentos
Determinar la influencia de la interacción entre <i>P. conjugatum</i> con diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de acumulación y de distribución a los órganos vegetativos aéreos de 13 metales y metaloides de interés presentes en sedimentos contaminados.	Concentración de los 13 metales y metaloides de interés en sustrato, raíz, tallo y hojas	Factor de bio-concentración (BCF raíz/sustrato) Factor de traslocación o distribución (FT tallo + hojas /raíz).	ICP-OES Microsoft Excel Sigmaplot Infostat
Determinar la influencia de la interacción entre <i>P. conjugatum</i> con diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre los patrones de lixiviación de 13 metales y metaloides de interés presentes en sedimentos contaminados.	Concentración de los 13 metales y metaloides de interés en lixiviados (30, 60 y 90 días)	Patrones de lixiviación (movilización) e inmovilización de los 13 metales y metaloides de interés	ICP-OES Microsoft Excel Sigmaplot Infostat
Determinar la influencia de diferentes tratamientos de hongos autóctonos y texturas de sustrato sobre el crecimiento de <i>P. conjugatum</i> .	Crecimiento y viabilidad de las plantas	Longitud de la planta, número de de hojas, entrenudos y estolones Biomasa peso seco Presencia de necrosis y clorosis Grado de colonización de micorrizas	Observación directa Microsoft Excel Microscopio de fluorescencia Mycocal'c

7.7. Métodos y procedimientos

7.7.1. Diseño experimental.

Se utilizó un arreglo de tratamiento por conveniencia con método no probabilístico de 35 plantas de *Paspalum conjugatum* (5 réplicas por tratamiento), desarrolladas a partir de estolones inducidos al enraizamiento que fueron sembradas en maceteras plásticas conteniendo 1000 g de sustrato. En la Tabla 3 se resume la composición del sustrato de los siete tratamientos experimentales en las que sembraron plantas y de los dos controles en las que no se sembraron. Se hicieron ensayos previos para desarrollar las plantas experimentales a partir de semillas de plantas colectadas en el Botadero La Estrella pero debido a su baja tasa de germinación o viabilidad se procedió a desarrollarlas a partir de estolones.

Las plantas se dejaron crecer durante 90 días en las condiciones experimentales de laboratorio con régimen natural de luz (día/ noche) y temperatura (Tabla 4), y riego con agua del grifo libre de cloro cuando fuera necesario para mantener los cultivos entre 85-95 % de la máxima capacidad de retención de humedad de acuerdo a recomendaciones en Lichtscheidl et al. (2014).

Durante 60 días se procedió a sobre-saturar las maceteras para inducir la producción de lixiviado que fue recogido y preservado para su posterior análisis por ICP-OES. Cada 30 días se registró información pertinente al crecimiento (cantidad de estolones y hojas, longitud de tallo y biomasa) y viabilidad de las plantas a lo largo de los 90 días de experimentos se tomaron los parámetros ambientales a los que eran expuestas las plántulas intensidad de luz y temperatura.

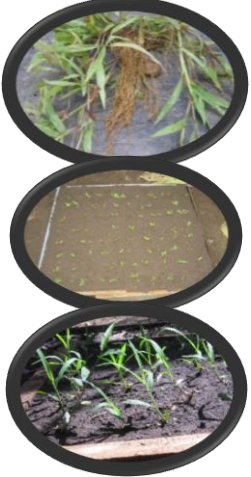

Tabla 3 Composición de los siete tratamientos y dos controles para experimentos de macetera con plántulas de *Paspalum conjugatum*.

Tratamientos	Descripción	Cantidad en gramos o presencia de tratamiento (pasteurización) o inóculos de comunidades fúngicas (micorrizas, hongos del suelo)				
		Sedimento natural (g)	Arena volcánica (g)	Pasteurizado	Hongos Micorrízicos	Hongos del suelo
I	Sedimento natural	1000				
II	Sedimento natural pasteurizado	1000		✓		
III	Sedimento pasteurizado y texturizado	800	200	✓		
IV	Sedimento pasteurizado y texturizado inoculado con micorrizas	800	200	✓	✓	
V	Sedimento pasteurizado y texturizado inoculado con hongos del suelo	800	200	✓		✓
VI	Sedimento pasteurizado y texturizado e inoculado con micorrizas y hongos del suelo	800	200	✓	✓	
VII	Sedimento pasteurizado y texturizado con plántulas con raíces infectadas naturalmente por micorrizas	800	200		✓	
Control I	Sedimento natural (sin planta)	1000				
Control II	Sedimento texturizado y pasteurizado (sin planta)	800	200			

Tabla 4. Condiciones ambientales durante los 90 días de experimentos.

Parámetro	Promedio	Desviación
Intensidad luminosa durante el día (Lux)	29 091	23 593
Temperatura (°C)	31.11	2.54

7.8 Preparación del material vegetal y sustrato para el montaje de los experimentos

Preparación del material vegetal (plántulas de <i>P. conjugatum</i>)	
<p>Pre acondicionamiento de estolones de <i>P. conjugatum</i></p> <p>La propagación por estolones se realizó con un ensayo inicial en bancales de tierra granza con una sola hoja y las raíces recortadas, posteriormente, se prosiguió a mantener una humedad del 70 % bajo sombra de 20 %. Se utilizaron 80 estolones seleccionados de plántulas adultas los cuales fueron sometidos a inducción de enraizamiento y nuevos brotes. Un promedio de 6 hojas por plántula y un crecimiento de 13 cm.</p>	
<p>Un segundo ensayo fue realizado con el objetivo de saber si se debía utilizar una hormona para ayudar a inducir a enraizamiento los estolones en bandeja plástica utilizando como sustrato arena de construcción estéril. Un total de tres tratamientos dos de ellos conteniendo diferentes concentraciones de fitohormonas (T1 12.5 mg, T2 25 mg y un T0 que fue el control). La diferencia en los resultados no fue significativa con promedio de sobrevivencia del</p>	
Preparación de sustrato	

<p>100% de un total de 30 plántulas con promedio total de 5 hojas, altura promedio de 6 cm y longitud de raíz de 8 cm.</p>	
<p>Tercer ensayo:</p> <p>Dado que en el segundo ensayo las plántulas de los tratamientos con fitohormonas no presentaron mucha diferencia en cuanto a adaptación y crecimiento respecto al T0 (control) se decidió realizar la aclimatación de las plántulas del experimento de Fitorremediación sin usar fitohormonas ya que se observó que se podían adaptar sin necesidad de estas. 205 estolones de los cuales sobrevivieron. 149 plántulas. con un promedio de 4 hojas por plántulas y una longitud de planta del 7 cm.</p>	
<p>Se utilizó como sustrato de siembra el sedimento colectado en el botadero la Estrella, el cual fue previamente secado a temperatura ambiente y posteriormente tamizado se pasteurizo en horno de calor, luego se mezcló con arena volcánica con una proporción de 200 g de arena volcánica y 800 g de sedimento previamente pasteurizado.</p> <p>El sustrato se trasladó a maceteras plástica de capacidad de 1000g, bajo las maceteras se les adaptaron botellas plásticas que fueron cortadas por la mitad, utilizando la parte inferior para la recolecta del lixiviado</p>	

Colecta de plantas autóctonas de *P. conjugatum* para el aislamiento, cultivo e inoculación de hongos micorrízicos y autóctonos

Las muestras de las plántulas *Paspalum conjugatum* P. J. Bergius con micorrizas fueron colectadas en el Botadero La Estrella. Posteriormente, las raíces fueron secadas por unos días y el inóculo fue preparado cortando las raíces de cada plántula, mezclándolas y almacenándolas a 4 °C hasta su uso.



Para la inoculación de micorrizas se realizó según Fatthah (2001) con modificaciones donde 2 g de masa de raíces colonizada por micorrizas fueron colocadas a 5 cm debajo antes de la siembra de las plántulas.



Aislamiento e identificación de Hongos Autóctonos del suelo

Los hongos autóctonos que se utilizaron para el experimento fueron aislados del suelo de las raíces de las plantas adultas de *P conjugatum*. P.J.Bergius de las cuales se seleccionaron estolones para el montaje del segundo pre ensayo. Los hongos aislados fueron cultivados en laboratorio de Biotecnología.

La identificación de las colonias bajo el microscopio se hizo hasta el nivel de géneros en montaje con cinta adhesiva y según la forma de las hifas y de otras estructuras especializadas (Agris, 1991).



Preparación del material vegetal

Se seleccionaron plántulas que presentaban más de tres hojas, las que fueron recortadas a un tercio de su tamaño y las raíces fueron cortadas totalmente, siguiendo los procedimientos realizados en los ensayos previos.



7.9 Estimación de niveles de colonización de micorrizas.

La estimación del nivel de colonización de las micorrizas hizo según Trouvelot et al. 1986, con algunas modificaciones. El procedimiento para la tinción de raíces fue el siguiente: Las raíces fueron cortadas aproximadamente con 1 cm de longitud. Luego se procedió a teñir el micelio con anilina azul. Se colocaron en un beaker conteniendo 10 ml de KOH al 2 % (p/v) durante 15 minutos a 80 °C. Se agregó una gota de H₂O₂ al 30%, se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente. Las raíces fueron transferidas a un plato Petri y enjuagadas con agua del grifo, esto se repitió tres veces. Luego se colocaron las raíces en un beaker conteniendo 10 ml de HCL al 2 %. Se incubaron por 5 min a temperatura ambiente.

Se transfirieron a un beaker conteniendo 10 ml de azul de anilina al 0.05 %, y mantenidas a 80 °C durante 30 minutos. Luego las raíces se colocaron en un beaker conteniendo 10 ml de ácido láctico al 85% y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos. Por último los fragmentos fueron colocados en un porta objeto y cubiertos con un cubre objeto y observadas al microscopio. Los hongos endomicorrizicos fueron teñidos. Una vez visto los fragmentos en el

microscopio, la abundancia, frecuencia y niveles de micorrización en los fragmentos y en todo el sistema radicular fue estimado a través de los cálculos hechos por MycoCalc. (Este es un programa de libre acceso)(<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/MycoCalc-prg/download.html>).

7.10 Colecta de indicadores de crecimiento y viabilidad de *P. conjugatum*

La toma de datos se realizó de manera periódica hasta el momento de la cosecha (30,60 y 90 días después de la siembra).

- ✓ Longitud de brote (cm): es la altura del tallo de la planta, desde la base hasta la primera hoja emitida.
- ✓ Número de hojas: es la cantidad de hojas desarrolladas en la planta, a partir de la base.
- ✓ Número de estolones: se contabilizaron estolones originados a partir de la planta principal.
- ✓ Clorosis: se observó el cambio de coloración de las hojas de cada uno de los individuos.
- ✓ Necrosis: Se observó la pérdida de hojas y afectación en los tallos por agentes patógenos.




7.10.1 Instrumentos para la obtención de datos

Hoja de monitoreo: Registros semanales del comportamiento de las plántulas durante el ensayo, con la sobrevivencia de plántulas, la emisión de hojas, humedad y temperatura (Anexo 3).

Tabla de registro: Conteo total de plantas sobrevivientes a los 3 meses de establecido el ensayo.

7.11 Medición de parámetros químicos

Determinación de metales y metaloides en sustrato	
Homogenización del sustrato, pesar 1 g de muestra y adicionar 4 ml de HNO ₃ 1+1 y 10 ml de HCl 1+1, calentar en un hot plate a 85 °C con	

<p>reflujo (vidrio reloj) por 30 minutos, enfriar y diluir a 25 mL con agua destilada.</p>	
<p>Determinación de metales y metaloides en plantas</p> <p>Separar cada compartimento de la planta (raíz, tallo y hojas), secar durante 4 horas diarias durante una semana mediante luz solar, secar 1 hora mediante horno, proceder a macerar, Pesar 0.5 g de muestra y adicionar 5 ml de HNO₃ concentrado, calentar en un hot plate a 90 °C por 45 minutos, incrementar la temperatura a 140 °C y continuar la digestión hasta 1 ml de la muestra, enfriar y diluir a 25 mL con HNO₃ 1% v/v</p>	
<p>Determinación de metales y metaloides en lixiviado</p> <p>Se tomaron 100 ml de muestra, se le adicionan 2 ml de HNO₃ 1+1 y 1 ml de HCl 1+1, se calentó la mezcla en hot plate a 85 °C, se reflujan los últimos 30 minutos hasta que se obtiene un volumen de aproximadamente 5 ml, enfriar y diluir a 25 mL con agua destilada.</p>	

VIII. Resultados.

8.1 Metales y metaloides de interés en sustrato

Se analizaron un total de 32 elementos en el sedimento minero del Botadero “La Estrella” a utilizar en los experimentos y en los diferentes órganos vegetativos de *P. conjugatum*, pero para este análisis solamente estamos considerando 13 elementos (Pb, Cu, Cr, Zn, Cd, As, Hg, Ag, Se, Al, Ba, Co y Tl). Diez de ellos porque sobrepasan las Directrices Canadienses de calidad de suelo para la protección de la salud humana y ambiental (Ag, Ba, Cd, Co, Cu, Pb, Se, Tl, Zn y Hg), además del Aluminio por ser un elemento mayor en el sedimento del Botadero (> 5000 mg/kg) y el Cromo porque fue reportado por Mendieta y Taisigüe (2015) como un elemento con potencial de acumulación y traslocación en *P. conjugatum*.

Lectura de extractos de sustrato, plantas y lixiviado en el ICP-OES Agilent Serie 700

Los analitos de interés fueron cuantificados por Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) con longitudes de onda y rango de trabajo establecidos para cada uno. En este análisis la muestra en solución es bombeada al nebulizador para producir un aerosol que es transportado por el gas Argón a través de la cámara de atomización y la antorcha hacia una fuente de plasma acoplada inductivamente. Posteriormente la muestra es desolvatada y atomizada produciendo átomos o iones excitados, cuya intensidad de emisión de luz es directamente proporcional a la concentración de las especies emisoras en solución. La cuantificación es llevada a cabo por extrapolación lineal de la intensidad emitida de cada analito contra la curva de calibración de cinco niveles de concentración. La concentración calculada es corregida tomando en cuenta el porcentaje de recuperación del estándar testigo o subrogado (Itrio).



En la Tabla 5 se muestran las concentraciones de los 12 elementos de interés que están incluidos en las Directrices Canadienses para los cuatros usos más importantes del suelo (agricultura, residencial/parque, comercial e industrial). Los elementos que las sobrepasan fueron el Plomo (5-19 veces), Talio (12 veces) y Cobre (2-3 veces) para todos los usos; seguidos del Mercurio (> 2 veces), Selenio (40 %), Plata (36 %), Zinc (30 %) y Cobalto (7-26 %) para los usos agricultura y residencial/parque. El Bario sobrepasó (10 %) la directriz para el uso residencial/parque y el Cd (26 %) la del uso agrícola. El Arsénico y el Cromo no sobrepasaron las directrices para ningún uso. Estas concentraciones justifican la necesidad de remediar los sedimentos del Botadero debido al gran potencial tóxico y de contaminación que representan para la salud humana y ambiental.

Tabla 5. Concentraciones promedio de metales y metaloides de interés (mg/kg peso seco) en el sedimento minero del Botadero “La Estrella” comparadas con las recomendadas por las Directrices Canadienses de calidad de suelo (usos agrícola, residencial/parque, comercial e industrial) para la protección de la salud humana y ambiental (2007).

Elementos	Botadero	Agricultura	Residencial	Comercial	Industrial
Ag	31.2	20	20	40	40
As	4.3	12	12	12	12
Ba	545	750	500	2000	2000
Cd	2.2	1.4	10	22	22
Co	54	40	50	300	300
Cr	8.3	64	64	87	87
Cu	187	63	63	91	91
Pb	1325	70	140	260	600
Se	1.4	1	1	2.9	2.9
Tl	12	1	1	1	1
Zn	283	200	200	360	360
Hg	14.8	6.6	6.6	24	50

Negrilla en rojo: Elemento por encima de alguna directriz de calidad

Negrilla en negro: Directriz de calidad que ha sido sobrepasada por el sedimento

Tabla 6. Concentraciones promedio de metales y metaloides de interés (mg/kg peso seco) en el sedimento minero del Botadero “La Estrella” comparadas con las Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 de calidad de suelo (usos agrícola/residencial e industrial) para la protección de la salud humana y ambiental (2007).

Elementos	Botadero (mg/Kg)	Uso agrícola/residencial (mg/Kg)	Uso industrial (mg/Kg)
Ag	31.2	22	260
Cd	2.2	37	450
Cr Hexagonal	8.3	280	510
Pb	1325	406	750
Se	1.4	390	5100
TI	12	23	310
Hg	14.8	23	310

Negrilla en rojo: Elemento por encima de alguna directriz de calidad

Negrilla en negro: Directriz de calidad que ha sido sobrepasada por el sedimento

En la Tabla 7 se muestran las concentraciones de 7 elementos de interés que están incluidos en las Directrices mexicana para dos tipos de usos del suelo (agricultura/residencial e industrial). Los elementos que las sobrepasan fueron Arsénico y plomo.

Tabla 6. Concentraciones promedio iniciales de metales y metaloides de interés (mg/kg peso seco) en los diferentes tratamientos.

Elemento/ Tratamiento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	1325	1154	953	918	894	970	820
Cobre (Cu)	187	174	147	144	139	146	125
Cromo (Cr)	8.3	7.5	7.0	6.8	6.8	6.8	6.0
Zinc (Zn)	283	254	212	203	204	214	183
Cadmio (Cd)	2.2	2.0	2.4	2.7	2.6	2.7	2.3
Arsénico (As)	4.3	4.2	4.7	5.9	6.5	5.5	5.4
Mercurio (Hg)	14.8	13.0	10.6	9.9	10.6	10.7	9.3
Plata (Ag)	31.2	27.4	23.2	21.9	23.8	23.3	19.8
Selenio (Se)	1.4	1.2	1.3	1.6	1.7	1.1	1.4
Aluminio (Al)	5359	5468	4989	4979	4986	4996	4694
Bario (Ba)	544	485	422	402	387	418	534
Cobalto (Co)	54	53	42	35	34	46	55
Talio (Tl)	12.1	11.8	10.0	8.8	9.5	9.0	12.0

I: Sedimento natural **II:** Sedimento pasteurizado **III:** Sedimento pasteurizado+ texturizado **IV:** Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza **V:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Hongos del suelo **VI:** Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo **VII:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona

8.2 Metales y metaloides de interés en los órganos vegetativos de

Paspalum conjugatum

En la Tabla 7 se presentan las concentraciones promedio de los 13 metales y metaloides de interés detectadas en las raíces de *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos. Los elementos que más se acumularon en orden descendente de importancia fueron el Aluminio, Plomo, Zinc, Bario y Cobre con concentraciones desde 69 (Cobre, Tratamiento V) hasta 4031 mg/kg (Aluminio, Tratamiento VII), respectivamente. Esto era lo esperado debido a que estos elementos estaban presentes en los sustratos con las concentraciones más altas (Tabla 6), con la singularidad de que las plantas acumularon relativamente más Zinc que Bario que estaba presente en concentraciones de casi el doble. Esto se explica fácilmente debido a que el Zinc es considerado un elemento esencial del metabolismo vegetal (CCME, 1999).

Los elementos que se acumularon menos en las raíces fueron Cobalto, Plata, Mercurio, Talio, Selenio y Cadmio que se detectaron en el rango desde 1.1 (Cadmio, Tratamiento VII) hasta 22.6 mg/kg (Cobalto, Tratamiento IV). El Arsénico fue detectado en concentraciones muy bajas (0.7 mg/kg) solamente en tres de los tratamientos (I, II y III). El Cromo fue detectado en concentraciones trazas (0.01 a 0.02 mg/kg) a pesar de estar presente en los sustratos en concentraciones desde 6 hasta 8 mg/kg (Tabla 12).

En la Tabla 8 se presentan las concentraciones promedio de los 13 metales y metaloides de interés detectadas en los órganos aéreos (tallo+ hojas) de *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos. Los elementos que más se acumularon en orden descendente de importancia fueron el Aluminio, Zinc, Bario, Plomo y Cobre con concentraciones desde 5.1 (Cobre, Tratamiento VII) hasta 341 mg/kg (Aluminio, Tratamiento I), respectivamente. Esto era lo esperado debido a que estos elementos estaban presentes en los sustratos con las concentraciones más altas (Tabla 12), con la singularidad de que las plantas acumularon relativamente más Zinc y Bario que Plomo que estaba presente en concentraciones mucho más altas en el sustrato (Tabla 12). Esto podría explicarse debido a que el Plomo no es un elemento esencial del metabolismo vegetal (CCME, 1999) y es probable que *P. conjugatum* restrinja su transporte a los órganos aéreos.

Tabla 7. Concentraciones promedio de los 13 metales y metaloides de interés (mg/kg peso seco) detectadas en las raíces de *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

Elemento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	223.8	325.7	372.0	366.2	283.7	304.4	328.2
Cobre (Cu)	84.5	85.2	84.1	102.5	69.0	166.0	114.4
Cromo (Cr)	0.02	0.02	0.015	0.018	0.01	0.018	0.014
Zinc (Zn)	184.0	254.9	205.6	196.9	174.1	237.8	167.3
Cadmio (Cd)	1.2	1.5	1.3	1.4	1.1	2.3	1.1
Arsénico (As)	0.7	0.7	0.7	ND	ND	ND	ND
Mercurio (Hg)	6.0	7.1	7.0	12.3	12.2	13.5	60.7
Plata (Ag)	9.1	9.0	7.2	5.5	3.7	7.2	14.8
Selenio (Se)	4.0	1.0	3.6	2.7	2.0	4.6	4.4
Aluminio (Al)	1834	2473	2588	3029	2641	3796	4031
Bario (Ba)	127.3	201.5	251.3	219.8	190.2	194.3	218.3
Cobalto (Co)	12.8	20.1	22.3	22.6	16.9	19.3	20.2
Talio (Tl)	5.7	8.3	6.7	8.2	3.8	8.3	3.3

I: Sedimento natural II: Sedimento pasteurizado III: Sedimento pasteurizado+ texturizado
 IV: Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza V: Sedimento pasteurizado + texturizado + Hongos del suelo
 VI: Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo VII: Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona.

Tabla 8. Concentraciones promedio de los 13 metales y metaloides de interés (mg/kg peso seco) detectadas en órganos aéreos (tallos + hojas) de *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

Elemento/ Tratamiento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	8.6	18.7	38.2	5.8	6.7	2.3	4.0
Cobre (Cu)	6.9	7.9	6.5	5.9	8.2	5.2	5.1
Cromo (Cr)	0.003	0.005	0.005	0.005	0.010	0.003	0.006
Zinc (Zn)	85.7	241.3	105.3	76.7	82.4	46.9	65.2
Cadmio (Cd)	0.1	1.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
Arsénico (As)	0.3	ND	0.2	0.4	ND	0.003	0.2
Mercurio (Hg)	0.04	ND	0.8	1.2	0.9	1.4	1.3
Plata (Ag)	1.1	0.1	0.1	0.4	1.1	0.9	0.8
Selenio (Se)	2.5	0.4	1.0	2.0	1.3	1.2	1.3
Aluminio (Al)	341.3	260.9	161.0	329.7	261.3	151.5	315.1
Bario (Ba)	14.9	6.0	5.7	5.3	9.0	4.7	9.0
Cobalto (Co)	1.1	0.7	0.7	0.5	0.7	0.4	0.7
Talio (Tl)	1.0	0.1	0.2	1.2	0.6	1.2	0.9

I: Sedimento natural **II:** Sedimento pasteurizado **III:** Sedimento pasteurizado+
texturizado **IV:** Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza **V:** Sedimento pasteurizado
+ texturizado + Hongos del suelo **VI:** Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos
del suelo **VII:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona
ND: No detectado

Los elementos que se acumularon menos en los órganos aéreos de las plantas (tallo+hojas) fueron Selenio, Cobalto, Plata, Talio y Cadmio que se detectaron en el rango desde 0.1 (Cadmio, Tratamientos I y V) hasta 2.5 mg/kg (Selenio, Tratamiento I) (Tabla 8). El Mercurio fue detectado en concentraciones bajas en todos los tratamientos (ND en Tratamiento II a 1.4 mg/kg en Tratamiento VI). El

Arsénico fue detectado en concentraciones muy bajas en los Tratamientos I, III, IV, VI y VII (0.03 a 0.4 mg/kg) y no fue detectado en los tratamientos II y V. El Cromo fue detectado en concentraciones trazas (0.003 a 0.010 mg/kg) en todos los tratamientos. El Cadmio, Mercurio, Arsénico y Cromo son metales y metaloides no considerados como elementos esenciales para el metabolismo vegetal (CCME, 1997, 1999).

8.3 Factores de bioconcentración y de traslocación de los metales y metaloides de interés

En la Tabla 9 se presentan los Factores de Bio-concentración (BCF) calculados dividiendo la concentración del elemento en la raíz entre la concentración del elemento en el sustrato rizosférico. Entre éstos se distinguen los calculados para Selenio (0.40-9.79) y Mercurio (0.38-4.79) por ser los únicos dos elementos que presentaron BCFs > 1 (implicando acumulación activa, Orroño, 2002) en seis (en todos excepto en II) y cuatro tratamientos (IV, V, VI y VII), respectivamente (Figura 1). El Zinc también presentó BCFs > 1 en dos tratamientos (V y VII) y factores muy cercanos a 1 en cuatro tratamientos (II, III, IV y V) lo que implicaría el alto potencial de acumulación de este elemento en *P. conjugatum*. La mayoría de los otros metales de interés (Plomo, Cobre, Cadmio, Plata, Aluminio, Bario y Cobalto) presentaron BCFs entre 0.1 y 0.9 que implicaría que *P. conjugatum* actúa como planta indicadora de suelos o sustratos contaminados por dichos elementos (Orroño, 2002) (Tabla 7, Figs. 1 y 2). El Talio presentó un BCF de aproximadamente 1 en el tratamiento IV (Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza) y el Cobre (1.14) en el tratamiento VI (Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo). El metaloide Arsénico se distinguió por presentar BCFs de 0.14 a 0.17 en los primeros tres tratamientos (Sedimento natural, Sedimento pasteurizado y Sedimento pasteurizado y texturizado) y a no acumular del todo en los cuatro tratamientos que tenían inoculados hongos del suelo y/o micorrízicos (IV, V, VI y VII) (Tabla 9, Fig. 2). El Cromo presentó los BCFs más bajos de todos los elementos de interés (0.001 a 0.003) implicando que *P. conjugatum* parece actuar como exclusora de él en términos de acumulación (Orroño, 2002), pero lo trasloca como si fuera una planta indicadora de contaminación por Cromo (Tablas 7 y 8, Fig. 2).

Tabla 9. Factores promedio de bio-concentración (BCF raíz/sustrato) de los 13 metales y metaloides de interés en *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

Elemento/ Tratamiento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	0.18	0.29	0.40	0.40	0.32	0.31	0.45
Cobre (Cu)	0.46	0.50	0.58	0.71	0.50	1.14	0.92
Cromo (Cr)	0.002	0.003	0.002	0.003	0.001	0.003	0.002
Zinc (Zn)	0.63	0.98	0.97	0.97	0.85	1.12	1.08
Cadmio (Cd)	0.58	0.74	0.54	0.54	0.43	0.88	0.54
Arsénico (As)	0.14	0.14	0.17	ND	ND	ND	ND
Mercurio (Hg)	0.38	0.54	0.66	1.26	1.14	1.23	4.79
Plata (Ag)	0.29	0.34	0.32	0.25	0.16	0.30	0.66
Selenio (Se)	2.17	0.40	1.36	1.87	1.21	9.79	2.00
Aluminio (Al)	0.35	0.45	0.52	0.55	0.53	0.77	0.89
Bario (Ba)	0.24	0.42	0.62	0.67	0.49	0.46	0.62
Cobalto (Co)	0.24	0.40	0.54	1.00	0.50	0.42	0.51
Talio (Tl)	0.47	0.71	0.70	0.95	0.39	0.35	0.25

I: Sedimento natural **II:** Sedimento pasteurizado **III:** Sedimento pasteurizado+ texturizado **IV:** Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza **V:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Hongos del suelo **VI:** Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo **VII:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona **ND:** No detectado

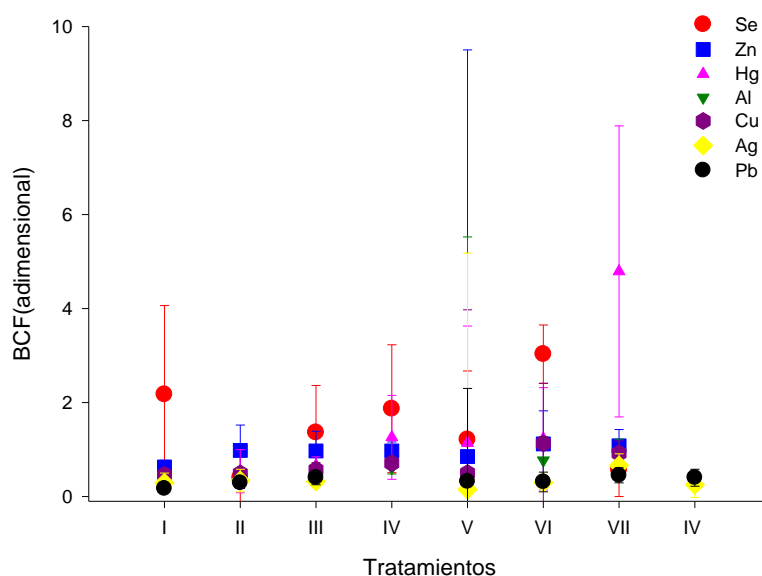


Figura 1. Factores promedio de bio-concentración (BCF raíz/sustrato) y desviaciones estándar calculados para 7 metales y metaloides de interés (Selenio, Mercurio, Zinc, Aluminio, Cobre, Plata y Plomo) con mayor potencial de acumulación en *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos

En la Tabla 10 se presentan los Factores de Traslocación (FT) calculados dividiendo la concentración del elemento en los órganos vegetativos aéreos (tallo + hojas) entre la concentración del elemento en la raíz. Entre éstos se distinguen los calculados para Selenio (0.10-5.4) y Cromo (0.3-1.0) por ser los únicos dos elementos que presentaron $FT > 1$ (implicando traslocación activa, Orroño, 2002) en dos tratamiento (IV y V) y en uno (V), respectivamente (Fig. 9). El Zinc presentó FTs en el rango de 0.3 a 0.7 en todos los tratamientos que implica el potencial de *P. conjugatum* como planta indicadora de suelos o sustratos contaminados por dicho elemento (Orroño, 2002) (Fig. 3). La mayoría de los otros metales de interés (Plomo, Cobre, Cadmio, Mercurio, Plata, Aluminio, Bario, Cobalto y Talio) presentaron FTs < 0.2 lo que implicaría que *P. conjugatum* actúa como planta exclusora de éstos elementos en suelos o sustratos contaminados (Orroño, 2002). El Arsénico se distinguió por presentar los FTs más bajos en dos tratamientos (0.08 a 0.09, Sedimento natural y Sedimento pasteurizado y texturizado) y a no traslocar del todo en los otros cinco tratamientos. Esto podría implicar que *P. conjugatum* actúa como exclusora de este metaloide.

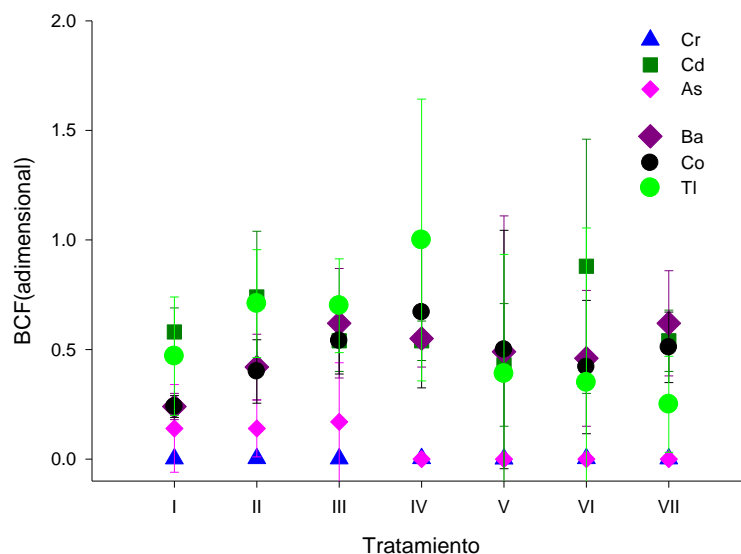


Figura 2. Factores promedio de bio-concentración (BCF raíz/sustrato) y desviaciones estándar calculados para 6 metales y metaloides de interés (Cromo, Cadmio, Arsénico, Bario, Cobalto y Talio con menor o nulo potencial de acumulación en *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

El Selenio puede jugar un rol importante en el crecimiento de las plantas, pero esto no ha sido confirmado, sin embargo, debido a que sustituye al Azufre en los aminoácidos y proteínas puede interrumpir el metabolismo vegetal normal (CCME, 2009). En un estudio realizado por el Departamento de Energía de los Estados Unidos en 1998 (USDOE) en el que compilaron BCFs para Selenio en varias especies vegetales (incluyendo plantas herbáceas) reportaron valores desde 0.02 hasta 77 con una mediana de 0.7, que fue utilizada para el desarrollo de la directriz Canadiense de Selenio para calidad de suelos (CCME, 2008). El Selenio puede ser traslocado a los órganos aéreos de la planta, presentando mayores concentraciones en semillas y hojas que en el tallo.

El Zinc es un elemento esencial requerido para el buen funcionamiento de los procesos biológicos en plantas y animales y se sabe que forma parte de cerca de 200 metalo-enzimas y otros compuestos metabólicos (CCME, 1999). Sin embargo, la acumulación de altas concentraciones de Zinc puede afectar el crecimiento y desarrollo de las plantas al desequilibrar la acumulación y

distribución de otros nutrientes y afectar algunos procesos como la fotosíntesis y la actividad enzimática anti-oxidant (Xu et al. 2010).

Tabla 10. Factores promedio de traslocación de la raíz hacia los órganos aéreos (FT tallo+hojas/raíz) de los 13 metales y metaloides de interés en *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

Elemento/ Tratamiento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	0.32	0.08	0.08	0.019	0.025	0.019	0.007
Cobre (Cu)	0.09	0.10	0.08	0.06	0.12	0.12	0.06
Cromo (Cr)	0.75	0.25	0.38	0.38	1.0	0.25	0.38
Zinc (Zn)	0.59	0.73	0.56	0.40	0.51	0.46	0.30
Cadmio (Cd)	0.16	0.57	0.13	0.12	0.12	0.17	0.11
Arsénico (As)	0.09	ND	0.08	ND	ND	ND	ND
Mercurio (Hg)	0.05	ND	0.19	0.12	0.08	0.022	0.05
Plata (Ag)	0.13	0.012	0.018	0.10	0.24	0.22	0.08
Selenio (Se)	0.47	ND	0.28	5.4	1.48	0.10	0,6
Aluminio (Al)	0.12	0.11	0.06	0.12	0.10	0.09	0.07
Bario (Ba)	0.11	0.033	0.024	0.025	0.048	0.05	0.019
Cobalto (Co)	0.05	0.037	0.037	0.027	0.043	0.05	0.031
Talio (Tl)	0.09	0.007	0.024	0.1	0.16	0.015	0.24

I: Sedimento natural **II:** Sedimento pasteurizado **III:** Sedimento pasteurizado+ texturizado **IV:** Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza **V:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Hongos del suelo **VI:** Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo **VII:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona
ND: No detectado

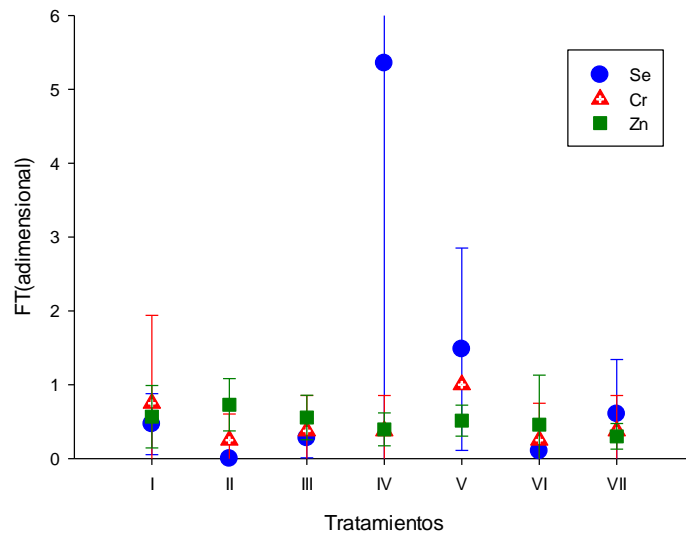


Figura 3. Factores promedio de traslocación (FT tallo+hojas/raíz) y desviaciones estándar calculados para 3 metales y metaloides de interés (Selenio, Cromo y Zinc) con alto potencial de traslocación en *Paspalum conjugatum* sometidas a los diferentes tratamientos.

El Talio puede ser bioacumulado, probablemente debido a su similitud con el Potasio que es un macro-nutriente esencial, ya que se han reportado factores tan altos como 106 para plantas acuáticas de agua dulce (CCME, 1999). También se sabe que el Talio puede estar más disponible en fuentes de origen antropogénico que en las de origen geológico (CCME, 1999).

El Cobre es un elemento con esencialidad restringida en humanos y animales ya que participa en muchas reacciones enzimáticas, se puede acumular pasivamente pero con bajo potencial ($BCF < 1$) (CCME, 1999).

El Arsénico es un metaloide no esencial para el metabolismo vegetal por lo que las plantas terrestres muy raramente presentan concentraciones mayores a las de su sustrato (CCME, 1997).

La esencialidad del Cromo tampoco ha sido comprobada para las plantas, por lo que las concentraciones encontradas son generalmente bajas aunque crezcan

en suelos contaminados (CCME, 1997). Muchos estudios han comprobado que tanto la acumulación del Cromo en las plantas como su traslocación es muy baja y que generalmente las raíces contienen más cromo que los órganos vegetativos aéreos (CCME, 1997).

El Mercurio no es un elemento esencial del metabolismo vegetal ni animal, por lo que su acumulación en las raíces y traslocación a las partes aéreas de las plantas es baja. La deposición atmosférica sobre las hojas contribuye directamente a su absorción y transporte al humus del suelo por abscisión foliar (Petra y Sharma, 2000). Algunos estudios han reportado que la acumulación de mercurio en las raíces inhibe la acumulación de macro nutrientes esenciales como el Potasio (CCME, 1999).

El Plomo es un elemento no esencial para las plantas por lo que los BCFs reportados para la mayoría de las plantas varía entre 0.001 y 0.4 (CCME, 1999).

8.4 Lixiviación de metales y metaloides de interés

En la Tabla 11 se presentan las concentraciones acumuladas de los 13 metales y metaloides de interés en los lixiviados obtenidos después de aplicar lavados a los 30, 60 y 95 días de experimentos.

Hubo diferencias importantes inclusive en los patrones de lixiviación de los dos controles utilizados (CI: Sedimento natural sin planta; CII: Sedimento pasteurizado + texturizado sin planta. Por ejemplo, cinco metales y metaloides altamente tóxicos como son el Plomo, Cromo, Selenio, Bario y Talio se lixiviaron menos (o se inmovilizaron) al texturizar y pasteurizar el sedimento minero natural. Otros cinco metales de interés como son Zinc, Cadmio, Arsénico, Mercurio y Aluminio mostraron el patrón contrario al lixivarse más por la texturización y pasteurización del sedimento minero. Cuatro de estos elementos no son esenciales para el metabolismo animal ni vegetal por lo que su movilización sería una fuente potencial de contaminación. El Cobre se lixivió en menor proporción al pasar de ND a <LD, la Plata y el Cobalto que se lixiviaron muy poco mostraron la misma concentración en ambos controles.

Tabla 11. Concentraciones promedio acumuladas (mg/L) de los 13 metales y metaloides de interés en los lixiviados obtenidos después de 30, 60 y 95 días de experimentos en los diferentes tratamientos y controles.

Metales/ Tratamiento	CI	CII	I	II	III	IV	V	VI	VII
Plomo (Pb)	0.182	0.048	0.043	0.069	0.071	0.03	0.03	0.03	0.023
Cobre (Cu)	ND	<LD	ND	ND	ND	<LD	<LD	<LD	ND
Cromo (Cr)	0.026	0.010	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	ND
Zinc (Zn)	ND	0.190	ND	0.027	0.289	0.286	0.259	0.183	0.484
Cadmio (Cd)	0.014	0.025	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	<LD
Arsénico (As)	0.059	0.115	0.008	0.010	0.012	0.015	0.01	0.01	<LD
Mercurio (Hg)	0.010	0.075	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	<LD	<LD
Plata (Ag)	<LD	<LD	0.100	0.141	0.085	0.032	0.044	0.054	0.041
Selenio (Se)	0.220	0.134	0.105	0.138	0.117	0.258	0.066	0.28	<LD
Aluminio (Al)	139.0	161.9	0.25	0.14	0.32	<LD	<LD	<LD	<LD
Bario (Ba)	0.048	0.031	0.10	<LD	0.016	0.027	0.026	0.024	<LD
Cobalto (Co)	0.010	0.010	<LD	<LD	0.043	0.029	0.027	0.104	<LD
Talio (TI)	0.421	0.323	ND	<LD	0.036	0.044	0.043	0.111	<LD

Control I: Sedimento natural sin planta **Control II:** Sedimento pasteurizado+ texturizado sin planta **I:** Sedimento natural **II:** Sedimento pasteurizado **III:** Sedimento pasteurizado+ texturizado **IV:** Sedimento pasteurizado+ texturizado + Micorriza **V:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Hongos del suelo **VI:** Sedimento pasteurizado + texturizado+ Micorriza + Hongos del suelo **VII:** Sedimento pasteurizado + texturizado + Micorriza autóctona.

ND: No detectado **< LD:** Menor al Límite de detección

La presencia de *Paspalum conjugatum* no permitió lixiviación importante de siete metales y metaloides de interés potencialmente tóxicos como son Cobre, Cromo,

Cadmio, Arsénico, Mercurio, Aluminio y Talio en todos los tratamientos independientemente de si el sustrato fuera o no inoculado con consorcios microbianos fúngicos lo que implica que éstos fueron inmovilizados principalmente por la cobertura vegetal. Lo que la presencia de inóculos fúngicos hizo fue en el caso del Aluminio casi eliminar la lixiviación del metal (<LD), mientras que lo contrario pasó para el Talio en que hubo más lixiviado en los tratamientos IV a VI y para el Arsénico en el Tratamiento V.

Los otros elementos de interés como son Plomo, Zinc, Selenio, Bario y Cobalto presentaron patrones de movilización en algunos tratamientos y de inmovilización en otros. Por ejemplo el Plomo se lixivió en los tratamientos II y III y se inmovilizó en los otros tratamientos que tenían inóculos fúngicos (IV a VII). El Zinc se movilizó en los tratamientos III a VII, en especial en el último y se inmovilizó en el I y II. El Selenio se movilizó en el IV y VI y se inmovilizó en el V y VII.

La Plata por otro lado se movilizó en todos los tratamientos, pero menos en los que tenían inóculos fúngicos (IV a VII).

8.5 Crecimiento y viabilidad de *Paspalum conjugatum* en los diferentes tratamientos e interacción con los consorcios fúngicos inoculados y el proceso de micorrización

8.5.1 Crecimiento y viabilidad de *P. conjugatum* en los tratamientos.

En las Figuras 4, 5 y 6 y en las Tablas 12, 13 y 14 se observan las características fisiológicas (número de hojas, estolones, entrenudos, longitud el tallo y de la raíz y biomasa en peso seco de hojas y raíz) utilizadas para evaluar el desempeño de las plantas en los diferentes tratamientos. También se utilizaron otros indicadores fisiológicos como son porcentaje de sobrevivencia y la presencia o ausencia de clorosis y/o necrosis.

La sobrevivencia de las plantas fue de 100 % en los Tratamientos I y VII, del 80 % en el tratamiento IV, de 60 % en los tratamientos III y IV y del 40 % en los tratamientos II y V. No se observó clorosis, sin embargo a los 67 días de cultivo las

plántulas fueron afectadas por necrosis, muchas de las plantas perdieron gran cantidad de hojas y en algunos tratamientos murieron algunas plántulas (Tratamientos III y V). Otras causas de mortalidad de otras plántulas fue la afectación de hongos parásitos y otras por entes bióticos como el herbívoro *Quiscalus nicaraguensis* que llegaba a picotear el tallo de las plántulas.

El menor número de hojas por tratamiento (7) se encontró en el tratamiento VI y el mayor (10) en el tratamiento III (Fig. 4 y Tabla 12). Esto podría implicar que la texturización y pasteurización del sedimento minero potenció la producción de hojas más que la inoculación de consorcios fúngicos. El menor número de estolones fue encontrado (1) en los Tratamientos I, II, IV, VI y VII y el mayor (2) fue encontrado en los Tratamiento III y V. Este hallazgo podría implicar que la texturización y pasteurización del sedimento minero y la presencia de Hongos del suelo potenció la producción de estolones, no así la inoculación de Hongos micorrízicos ni la interacción entre hongos del suelo y micorrízicos. El número de entrenudos fue de 5 en los Tratamientos V y VI, de 6 en el Tratamiento II y de 7 en los Tratamientos IV y VII, y de 10 en el tratamiento II. Una vez más la texturización y pasteurización del sedimentos minero promovió la producción de entrenudos y la inoculación de Hongos del suelo y micorrízicos la inhibió.

En la Figura 5 y la Tabla 13 se muestra la longitud promedio de las plantas de *P. conjugatum* en los siete tratamientos experimentales. La mayor longitud (48 cm) fue medida en el tratamiento II y la menor (23 cm) en el Tratamiento VI. Esto podría implicar que la pasteurización del sedimento minero potenció el crecimiento de las plantas mientras que la inoculación de consorcios fúngicos (hongos del suelo y micorrízicos

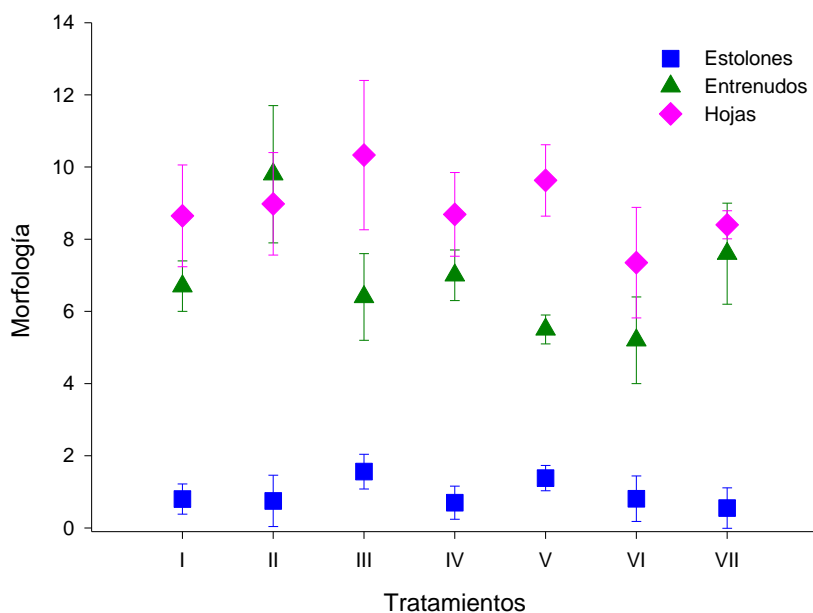


Fig. 4. Número promedio y desviación estándar de estolones, entrenudos y hojas producidos por plantas de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Tabla 12. Número promedio y desviación estándar de estolones, entrenudos y hojas en plantas de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Estructura/ Tratamiento	I	II	III	IV	V	VI	VII
Estolones	0,8	0,8	1,6	0,7	1,4	0,8	0,6
	0,4	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,6
Entrenudos	6,7	9,8	6,4	7,0	5,5	5,2	7,6
	0,7	1,9	1,2	0,7	0,4	1,2	1,4
Hojas	8,7	9,0	10,3	8,7	9,6	7,4	8,4
	1,4	1,4	2,1	1,2	1,0	1,5	0,4

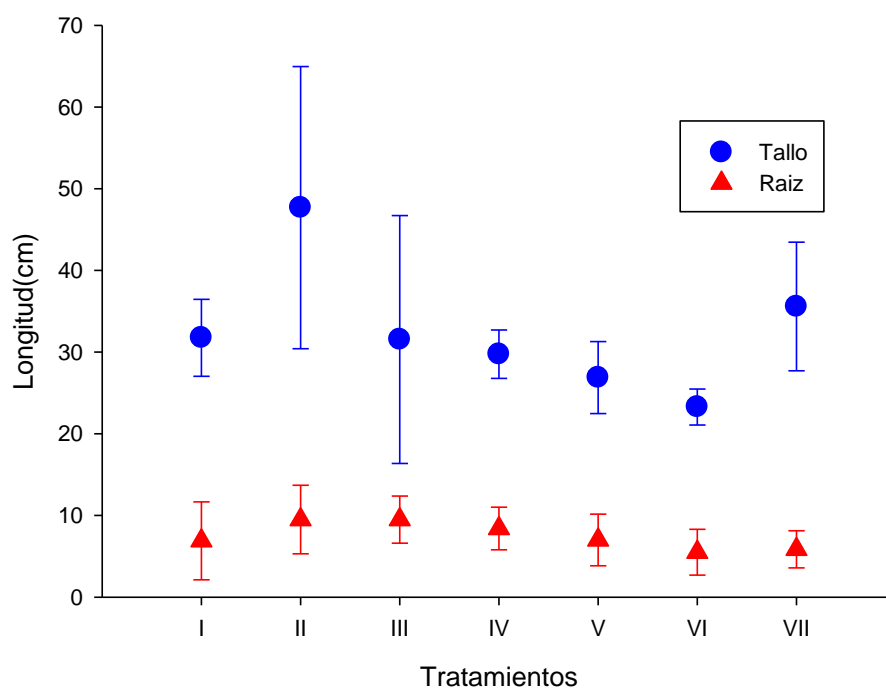


Fig. 5. Longitud promedio y desviación estándar (cm) de plantas de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Tabla 13. Longitud promedio y desviación estándar (cm) de plantas de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Órganos.	I	II	III	IV	V	VI	VII
Tallo+Hojas	31,8	47,7	31,5	29,8	26,9	23,3	35,6
	(4,7)	(17,3)	(15,2)	(3,0)	(4,4)	(2,2)	(7,9)
Raíz	6,9	9,5	9,5	8,4	7,0	5,5	5,9
	(4,8)	(4,2)	(2,9)	(2,6)	(3,2)	(2,8)	(2,3)

En la Figura 6 y la Tabla 14 se muestra la biomasa peso seco promedio de los órganos vegetativos aéreos (hojas + tallo) y de la raíz de las plantas de *P. conjugatum* en los siete tratamientos experimentales. La mayor biomasa (1.8 g) en los órganos aéreos se obtuvo en el Tratamiento III y la menor (0.71 g) en el Tratamiento V. Esto podría implicar que la pasteurización y texturización del sedimento minero potenció la biomasa de las plantas mientras que la inoculación de consorcios fúngicos (hongos del suelo y micorrízicos) la inhibió. La mayor biomasa de raíz fue encontrada en el tratamiento IV (0.27 g) y la menor (20.06 g) en el Tratamiento VI. Esto podría implicar que la competencia entre los diferentes consorcios fúngicos fue negativa para el crecimiento de la raíz mientras que la inoculación de hongos micorrízicos en el Laboratorio fue positiva. En ambos casos la influencia de la texturización y la pasteurización en general fue positiva comparada con la de los consorcios microbianos fúngicos.

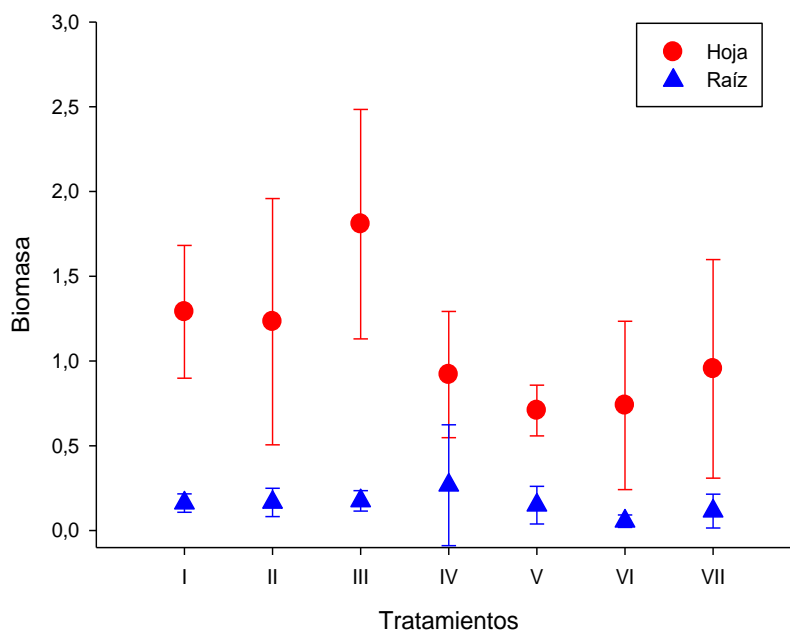


Fig. 6. Biomasa promedio y desviación estándar (g peso seco) de órganos vegetativos de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Tabla 14. Biomasa promedio y desviación estándar (g peso seco) de órganos vegetativos de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos.

Órganos.	I	II	III	IV	V	VI	VII
Hoja+Tallo	1,29	1,232	1,8075	0,92	0,708	0,7383	0,954
	0,392	0,726	0,677	0,372	0,150	0,496	0,645
Raíz	0,162	0,166	0,175	0,268	0,15	0,055	0,115
	0,054	0,084	0,060	0,356	0,111	0,037	0,099

8.6 Influencia de los tratamientos en el proceso de colonización de micorrizas en plantas de *P. conjugatum*.

En la Figura 7 se observa la intensidad de la colonización en las plántulas de *P. conjugatum* en los diferentes tratamientos. El tratamiento con mayor porcentaje

de colonización en el sistema radicular fue el II para el cual se estimó una abundancia arbuscular de 98 % y un porcentaje de infección del 81 % en todo el sistema. Este comportamiento podría explicarse en base a que el proceso de micorrización encontró condiciones óptimas de textura y humedad. Los tratamientos III y V presentaron los menores porcentajes de colonización. En el caso del tratamiento III se asume que la principal interferencia fue la pasteurización del sustrato, y para el tratamiento V la cantidad de inóculo del consorcio fúngico aislado del suelo o sedimento minero del Botadero "La Estrella" que posiblemente inhibió el proceso de colonización de las micorrizas al competir por los nutrientes presentes en el sustrato. El porcentaje de micorrización en los tratamientos III y V son: M: 0.52 % y M: 0.05% respectivamente. En la mayoría de los fragmentos de raíces observados en el tratamiento VII había presencia de estructuras de reserva o vesículas (Ver figura 8) lo que indica que el ciclo de penetración de los hongos endomicorrízicos estaba completado y si no pudo extenderse a todo el sistema radicular fue debido a la falta de condiciones óptimas de textura y humedad del suelo, se descarta la posibilidad de que la presencia de metales inhiba altamente la colonización al resto del sistema radicular porque en el tratamiento II la intensidad de la colonización en todo el sistema radicular fue del 81 % .

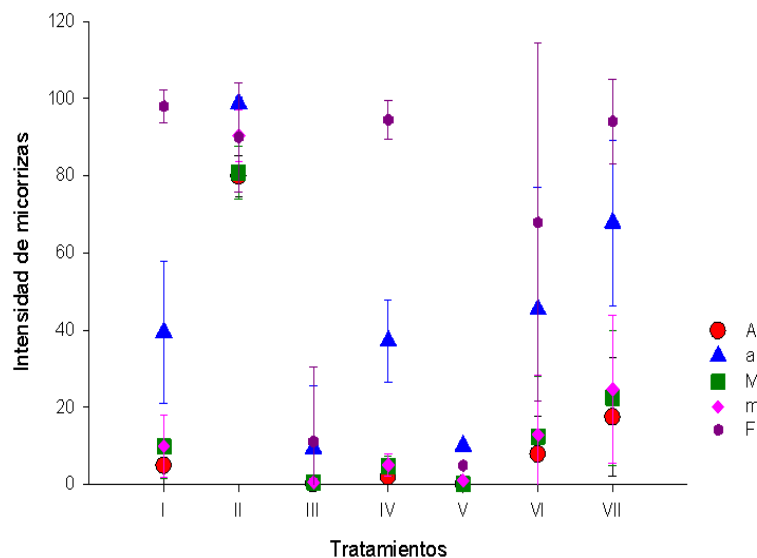


Figura 7. Estimación de la intensidad del proceso de micorrización en plantas de *P. conjugatum* sometidas a diferentes tratamientos

A: Abundancia arbuscular en el sistema radicular, a: Abundancia arbuscular en los fragmentos, M: Intensidad de la colonización en el sistema radicular, m: Intensidad radicular en los fragmentos de raíces

En la imagen 5 se observan las vesículas en fragmentos de raíces del tratamiento VII.



Imagen 5. Estructuras de reserva o vesículas en fragmentos de raíces de *P. conjugatum* expuesta al Tratamiento VII (Sedimento texturizado y pasteurizado con micorriza autóctono).

8.6.1 Interacción entre hongos autóctonos (hongos micorrízicos y hongos aislados del suelo/sedimento)

Los hongos aislados del suelo o sedimento minero del Botadero "La Estrella" que fueron agregados como una suspensión fúngica a los tratamientos V y VI contenían a los géneros *Monilla*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Geotrichum* y *Aspergillus*. Se esperaba que al hacer uso de la técnica de bioaumentación esto podría promover la lixiviación de los metales y metaloides debido a la producción de ácidos orgánicos. Sin embargo, parece que la competencia natural entre los microorganismos fúngicos por los nutrientes interfirió en la funcionalidad de los hongos inoculados que aparentemente no pudieron producir suficientes ácidos orgánicos como para promover la lixiviación.

La intensidad de la colonización de hongos micorrízicos en las plántulas de *P. conjugatum* en los diferentes tratamientos se pudo explicar en base a si habían condiciones óptimas de textura y humedad para que el proceso de micorrización se diera así como que su inhibición se debió más posiblemente debido a la competencia por nutrientes entre los diferentes tipos de hongos autóctonos inoculados y no por la presencia de metales y metaloides en altas concentraciones.

IX. Conclusiones

- Los factores de bio-concentración raíz/sustrato (BCF) y los patrones de acumulación de los metales y metaloides de interés permiten identificar un alto potencial de acumulación en *P. conjugatum* para Selenio (1.2-9.8), Mercurio (1.2-4.8) y Zinc (0.9-1.1), especialmente en los tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos. Los mismos parámetros identifican que *P. conjugatum* actúa como planta indicadora de suelos o sustratos contaminados por Plomo (0.3-0.4), Cobre (0.5-1.1), Cadmio (0.4-0.9), Plata (0.2-0.7), Aluminio (0.5-0.9), Bario (0.5-0.7) y Cobalto (0.4-1.0), especialmente en los tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos.
- Los BCFs y los patrones de acumulación de Arsénico (ND-0.2) indican que no fue acumulado en los tratamientos que incluyeron inoculación de consorcios microbianos fúngicos y muy poco en los otros tratamientos. El Talio fue acumulado en todos los tratamientos (0.2-0.9) pero en menor cantidad en los que incluyeron inoculación de hongos autóctonos, a excepción del tratamiento con hongos micorrízicos inoculados en el Laboratorio. El Cromo presentó BCFs muy bajos (0.001-0.003) porque se acumuló muy poco en las raíces pero tiene potencial de traslocación a los órganos aéreos que identifica a *P. conjugatum* como planta indicadora de contaminación por Cromo, especialmente en el tratamiento con hongos autóctonos aislados del sedimento.
- Los factores de Traslocación (FT) permiten identificar un alto potencial de distribución de la raíz a los órganos vegetativos aéreos (tallo + hojas) para Selenio (0.1-5.4) y Cromo (0.2-1.0), especialmente en los tratamientos que incluyeron inoculación de hongos autóctonos. Los mismos parámetros identifican que *P. conjugatum* actúa como planta indicadora de suelos o sustratos contaminados por Zinc (0.3-0.7) y como exclusora de Plomo (0.007-0.32), Cobre (0.06-0.12), Cadmio (0.11-0.57), Mercurio (ND-0.19), Plata (0.012-0.24), Aluminio (0.07-0.12), Bario (0.02-0.11), Cobalto (0.03-0.05) y Talio (0.007-0.16). Los resultados de Arsénico (ND-0.09) indican que el metaloide no fue traslocado del todo en los tratamientos que incluyeron

inoculación de hongos autóctonos y muy poco en los otros tratamientos, por lo que *P. conjugatum* actúa como exclusora de él.

- La presencia de *Paspalum conjugatum* no permitió lixiviación importante de siete metales y metaloides de interés potencialmente tóxicos como son Cobre, Cromo, Cadmio, Arsénico, Mercurio, Aluminio y Talio en todos los tratamientos independientemente de si el sustrato fuera o no inoculado con hongos autóctonos lo que implica que éstos fueron inmovilizados principalmente por la existencia de cobertura vegetal. Los otros elementos de interés como son Plomo, Zinc, Selenio, Bario y Cobalto presentaron patrones de movilización (aumento de la lixiviación) en algunos tratamientos y de inmovilización (disminución de la lixiviación) en otros.
- Las características fisiológicas utilizadas (número de hojas, estolones, entrenudos, longitud total y biomasa peso seco de los órganos aéreos) para evaluar el desempeño de las plantas de *P. conjugatum* en los diferentes tratamientos implican que la texturización y pasteurización del sedimento minero potenció la producción de hojas, entrenudos, crecimiento y biomasa más que la inoculación de hongos autóctonos y lo contrario en los estolones. La biomasa peso seco de la raíz fue mayor en los tratamientos que no incluyeron inoculación de hongos autóctonos, a excepción del tratamiento con hongos micorrízicos inoculados en el Laboratorio. La competencia entre los diferentes tipos de hongos autóctonos inoculados (micorrízicos y del suelo) fue negativa para la raíz.

Las implicaciones prácticas de este estudio para la remediación de desechos mineros contaminados son:

- La presencia de cobertura vegetal disminuye la lixiviación de algunos metales y metaloides potencialmente tóxicos actuando como un agente estabilizador o inmovilizador de contaminantes.
- La texturización (adición de arena) de los sedimentos mineros contribuiría grandemente a la potencial revegetación en los Botaderos con plantas herbáceas como la grama *Paspalum conjugatum*. Esta enmienda sin

embargo implicaría costos debido a que se requeriría una gran cantidad de arena (20 % del volumen o peso del sedimento minero).

- *Paspalum conjugatum* tiene potencial de fito-extracción importante para algunos metales y metaloides por lo que se recomienda su uso para la revegetación de botaderos mineros, aunque éste proceso debería de hacerse a partir de estolones aislados de los sitios de interés, cultivados in vitro, adaptados nuevamente al sustrato contaminado texturizado y luego trasplantados en el campo.
- Las plantas que crecen en estos Botaderos no deberían ser consumidas por biota herbívora debido a que algunos metales y metaloides potencialmente tóxicos son traslocados a las partes aéreas de las plantas por lo que se recomienda cercarlos.

X. Recomendaciones

- A las autoridades municipales de Santo Domingo, Chontales en conjunto con autoridades gubernamentales regionales (MARENA, MINSA, MEM) implementar planes de manejo de desechos potencialmente tóxicos como son los Botaderos de la minería artesanal para la prevención y disminución de los impactos generados a la salud humana y el medio ambiente.
- Al Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua divulgar los resultados obtenidos de esta tesis a las autoridades municipales, comunidad en general de Santo Domingo, Chontales y mineros artesanales para concientizarlos acerca de las implicaciones a la salud humana y al ambiente.
- A la dirección del Departamento de Biología de la UNAN-Managua incluir temáticas de bio- y fito-remediación en los planes de estudio ya que son alternativas biológicas para la rehabilitación de sitios contaminados.
- Al Laboratorio de Biotecnología de la UNAN-Managua y a la Alcaldía Municipal de Santo Domingo, Chontales gestionar financiamiento que permita llevar a cabo experimentos de campo con *Paspalum conjugatum* que permitan evaluar su potencial fitoremediador *in situ*.
- Al laboratorio de Biotecnología realizar más investigaciones enfocadas en esfuerzos de bio- y fito-remediación, con énfasis en el uso de hongos autóctonos y hongos micorrízicos y su interacción con las plantas.

XI. Bibliografía

Adriano, D.C., 1986. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risk of Metals, 1st ed. Springer-Verlag, New York.

Acevedo, E, Carrasco, A., Leon, O., Marinez, E., Silva, P., Castillo, G., Ahumada, I., Borie, G y Gonzalesz. 2005. Criterios de calidad de suelos agrícola

Agrios, N. G. (1991). Fitopatología. 4 a ed. LIMUSA México.

Alarcón, A., M. C. González-Chávez y R. Ferrera-Cerrato. 2003. Crecimiento y fisiología de *Citrus volkameriana* Tan&Pasq en simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares. Terra 21:503-511.

Allen, M. F., W. Swenson, J. I. Querejeta, L. M. Egerton-Warburton, and K. K. Treseder. 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plant and fungi. An. Rev. Phytopathol. 41: 271-303.

Arellano, W. P. (2009). Nicaragua lidera con remediación de suelos. La Prensa. Bargagli, R., 1998. Trace Elements in Terrestrial Plants: An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery. Springer-Verlag, Berlin.

Bago, B., C. Azcón-Aguilar, Y. Shachar-Hill y P. E. Pfeffer. 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puentesimbiótico entre la raíz y su entorno. pp.78-92. In: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Mundi-Prensa. México, D. F

BAKER, A.J.M. ; McGRATH, S.P. ; REEVES, R.D ; SMITH, J.A.C. Metal hyperaccumulator plants : a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. – In : Terry, N., Banuelos, G. (Eds.), Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Lewis Publishers, Boca Ranton, FL, USA. Chapter 5, pp85-107, 2000.

BAKER, A.M.J. (1987). Metal Tolerance. New Phytol. 106:93-111.

Baker, A.J.M., 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plant to heavy metals. Journal of Plant Nutrition 3: 643-654.

Baker, A.J.M. & R.R. Brooks. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements- a review of their distribution, ecology and phytochemistry biorecovery 1:81-126. -719.

Benavides y Espinoza. (2005). Impacto de la minería en la calidad del agua en la microcuenca del Río Artiguas. Énfasis en metales pesados

Brooks, R. R. (1998). Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals Their Role in Phytoremediation, Microbiology , Archaeology, Mineral Exploration and phytomining. New York: international center for agriculture and Biosciences.

C. Bettiola*, F. Minelloa, L. Gobboa, C. Rigoa, S. Bedinib, E. Bonac, G. Bertac, E. Argesea,(2012).*Phytoremediation potential of the arsenic hyperaccumulator

Castellón, M. (2010). Minería e impactos ambientales. Bogotá: AMB.

CHANEY, M., BROWN, S.L., LI, Y.M., ANGLE, J.S. HOMER, F.A. y GREEN, C.E. (1995). Potential use of metal hyperaccumulators. Min EnvironMag3:9-11.

Chen Z.S. 2000. Relationship between heavy metal concentrations in soil of Taiwan and uptake by crops. On line in: <http://www.fftc.agnet.org/library/aricle/tb149.html> Food and fertilizer technology center.

CIRA/UNAN-Managua; MARENA; INIFOM. (2006). Diagnóstico ambiental de la subcuenca alta de los ríos Siquia y Mico. Managua: MARENA.

CIRA/UNAN-Managua; MARENA; INIFOM. (2006). Diagnóstico ambiental de la subcuenca alta de los ríos Siquia y Mico. Managua: MARENA.

Csuros, M y Cesuros, C, (2002): Environmental sampling and analysis for metals.

Cuevas, P. A. (2010). Transferencia de metales de suelo a planta en áreas mineras: Ejemplos de los Andes peruanos y de la cordillera prelitoral Catalana.

Cunat P.J. 2002 Chromium in Stainless Steel Welding Fumes Issue N° 9. On line in: <http://www.chromium-asoc.com/publications/crfile9apr02.htm>

Csuros, M y C., Csuros. 2002. Environmental sampling and analysis for metals, Lewis Publisher, 372pp.

Coppenet, M.; More, E.; Corre, L, L. y Mao, M.L. 1972. Variations in ryegrass cobalt content: investigating enriching methods. *Ann. Agron.*, 23: 165-192.

Cunningham, S.D. & D.W. Ow. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.* 110:715

Casieera, F., y Aguilar., O, 2007. Estrés por aluminio en plantas: reacciones en el suelo, síntomas en vegetales y posibilidades de corrección.

Das P. Smantaray, S., and rout, G.R.. 1998. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution.* 98: 29-36.

del Castillo, P., Chardon, W.J. and Salomons, W. 1993. Influence of cattle-manure slurry application on the solubility of cadmium, copper, and zinc in a manured acidic, loamy-sand soil. *J. Environ. Qual.* 22:689-697.

Deng, X., Chai, L., Yang, Z., Tang, C., Wang, Y., & Shi, Y. (2012). Bioleaching mechanism of heavy metals in the mixture of contaminated soil and slag by using indigenous *Penicillium chrysogenum* strain F1. *Journal of Hazardous Materials*, 107-114.

Determinacion of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry. Revision EMMC version:

Díaz V., P., R. Ferrera-Cerrato, J. J. Almaraz-Suárez y G. Alcántar. González. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra* 19: 327-335.

Domsch K (1984) Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. *Plant and Soil*, 76: 367–378.

Davies, B.E. 1997. Heavy metal pollution of british agricultural soils with special reference to the role of lead and copper mining. In: *Proc. Int. Semin. On Soil Environment and Fertility Management in Intensive Agriculture*. Tokyo, 394

ELAW. (2010). Guía para Evaluar EIAs de Proyectos Mineros. U.S.A : Eugene, Alianza Mundial de Derecho Ambiental.

Ebbs, S.D. & L.V. Kochian. 1997. Toxicity of zinc and copper to Brassica species: implications for phytoremediation. J. Environ. Qual. 26:776-781.

Espinoza Benavides, T. M., & Espinoza Benavides, L. S. (2005). Tesis: Impacto de la minería en la calidad del agua en la microcuenca del Río Artiguas. Enfoque en metales pesados. Managua: UCA.

Gadd, G. M. (2004). Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. Geoderma, 109-119.

Gamal M. Abdel-Fattah (2001) Measurement of the viability of arbuscular-mycorrhizal fungi using three different stains; relation to growth and metabolic activities of soybean plants.

Gmal M. Abdel-Fattah. Measurement of the viability of arbuscular-mycorrhizal fungi using three different stains; relation to growth and metabolic activities of soybean plants. Department of Botany, Faculty of Science, University of Mansoura, Egypt). 1991

GRATÃO, P., POLLE, A., LEA, P. y AZEVEDO, R. (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Functional Plant Biology. 32 (481-494).
Ghosh, M. & S.P. Singh. 2005. A review of phytoremediation of heavy metals and utilisation of its byproducts. Appl. Ecol. Env. Res. 1:1-18.

Guía para la salud y la seguridad, 1995. Centro panamericano de ecología humana y salud. División de salud y ambiente. organización panamericana de la salud. Organización. Organización mundial de la salud. Metepec, Estado de México.

HernandezHernandez, A. (Junio de 2011). Tesis: Determinación de metales pesados en suelos de natividad. Recuperado el 12 de Agosto de 2013, de Sitio web de Universidad de Sierra Juarez: <http://www.unsij.edu.mx/tesis/digitales/4.%20ADELA%20HERNANDEZ%20HERNANDEZ.pdf>

HETTIARACHCHI, GM y GM PIERZYNSKI. 2002. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: Influence of plant growth. *J. Environ. Qual.*, 31:564-573.

Hildebrandt U, K. M. (1999). The zinc violet and its colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi. *J Plant Physiol* , 154: 709-717.

<http://www.archive.org/stream/floraofguatemalafiswal#page/276/mode/2up>
,Flora de Guatemala parte II

IUCN Red List of Threatened Species (2013), recuperado el 03/31/2014 del sitio web, <http://www.iucnredlist.org/details/177227/0>

James B.R. 2002. Chemical transformations of chromium in soils: Relevance to mobility, bio-availability and remediation. On line in: : <http://www.chromium-asoc.com/publications/crfile9apr02.htm>

Jorhem, L., and Sundstrom, B. 1993. Levels of lead, cadmium, zinc, copper, nickel, chromium, manganese, and cobalt in foods on the Swedish market, 1983-1990. *Journal of Food Composition and Analysis* 6, 223-241.

Jarvis, S. C., Jones, L.H.P. and Hopper, M.J.. 1978. Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots. *Plant and soil* 44:179-191.

Kabata-Pendias, A. 2000. Trace elements in soils and plants. Third Edition. CRC Press-Boca Raton, USA. 413p)

Kertulis-Tartar, G.M. 2005. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* L. and its potential for phytoremediation of arsenic contaminated sites. Tesis doctoral, Departamento de Ciencias del agua y suelo, Universidad de Florida.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 1992. Trace Elements in Soils and Plants, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.

La Prensa. (2009). Nicaragua lidera con remediación de suelos.

ley n° 387: ley especial sobre exploración y explotación de mina.

Liao, M.T., Hedley, M.J., Woolley, D.J., Brooks, R.R. and Nichols, M.A 2000a. Copper uptake and translocation in chicory(*Cichorium intybus* L..cv. Grasslands Puna) and tomato(*Lycopersicon esculentum* MILL, cv. Rony) plants grow in NFT system, I. Copper uptake and distribution in plants. Plant and soil. 221: 135-142.

Liao, M.T., M.J., Woolley, D.J., Brooks, R.R. and Nichols, M.A, 2000b. Copper uptake and translocation in chicory(*Cichorium intybus* L.. cv Grasslands puna) and tomato (*Licopersicon esculentum* Mill, cv Rony) plants grown in NFT system II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport. Plant and soil, 223: 243-252.

Laperche, V., Logan T.J., Gaddam P., and Traina, S.J..1997. Effect of apatite amendment on plant uptake of Pb from contaminated soil. Environ. Sci. Technol 31:2745-2753.

MA, L.Q.; KOMAR, K.M.; TU, C.; ZHANG, W.H. ; CAI, Y. ; KENNELLEY, E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic – a ardí, versatile, fase growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. Nature, p.409-579, 2001.

MACEK, T., FRANCOVA, K., SURA, M. y MACKOVA, M. (2006). Genetically modified plants with improved properties for phytoremediation purposes. In: Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils. Ed. Springer. 2 (68), pp 85-108.

Maksaev, V. (2009). Impacto ambiental de la actividad minera. Recuperado el 8 de Agosto de 2013, de Centro de cómputo de Universidad de Chile: <http://www.cec.uchile.cl/~vmaksaev/IMPACTO%20AMBIENTAL%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20MINERA.pdf>

Marmioli, B. S. (2010). Capacity in Phytotechnologies in Application of phytomtechnologies for clenup of industrial, agriculture and wastewater. Marmioli, M. A.-c. (2005). <http://www.redalyc.org/pdf/540/54016203.pdf>.

McKENNA, I. M., Chaney, R.L. and Williams, F.M..1993. The effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in leetuce and spinach. Environmental Pollution. 79: 113-120.

Monitoreo ambiental de sistemas productivos (2008), informe sistema productivo Minería, recuperado el 03/31/2014 de la página web:http://www.simas.org.ni/files/publicacion/Sistema_Productivo_Mineria.pdf

Moral, R., Palacios, G., Gomez, I., Navarro-Pedernero, J., and Mataix, J.. 1994. Distribution and accumulation of heavy metals(Cd, Ni and Cr) in tomato plant. *Fresenius Environmental Bulletin*. 3:395-399

Mendieta, C y Taisigue,K.(20015). Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas de la zona minera de Chontales:

Martinez, M., , Sant R., , Feldman., G, Riera., N. 2017. Registro de pacientes intoxicados con talio en Tucumán, luego de la prohibición de su uso como rodenticida en Argentina. Descargado del sitio web:http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=FAQ&faq_tag_id=16.

Markert, B., 1992. Presence and significance of naturally occurring chemical elements of the periodic system in the plant organism and consequences for future investigations on inorganic environmental chemistry in ecosystems. *Vegetatio* 103: 1-30.

Matzner, E. y J. Prenzel. 1992. Acid deposition in german solling area - Effects on soil solution chemistry and Al mobilization. *Water, Air, Soil Pollut.* 61, 221-234.

O'Neill, P. 1995. Arsenic. In: *Heavy Metals in Soils*; Alloway, B. J., Blackie Academic Y Professional: London, U.K., 1995,PP 105-121.

Orroño, I. D., (2002). Acumulación de metales (cadmio, zinc, cobre, cromo, níquel y plomo) en especies del género *Pelargonium*: suministro desde el suelo, ubicación en la planta y toxicidad. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Ortiz, I., Sanz García, J., Dorado Valiño, M., & Villar Fernandez, S. (2008). Informe de vigilancia tecnologica: Tecnicas de Recuperacion de suelos contaminados. Madrid: Madridmas.

Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (fao), 2009. Guía para la descripción de suelos, 4ta. edición.

Palomino,-E., &-M.Paredes, A v (2003) Biorremediacion de DAM mediante sistema de humedales.

Palomino,-E., &-M.Paredes, A v (2003) Biorremediacion de DAM mediante sistema de humedales.

Patra M. and Sharma A. 2000. Mercury Toxicity. In: Plants. Bot. Rev. 66:379-422.

Pearson, J.N., Rengel, Z., Jenner, C.F. and Graham, R.D. 1996. Manipulation of xylem transport affects Zn and Mn transport into developing wheat grains of cultured ears. *Physiologia Plantarum*. 98: 229-234.

PEÑA, C. Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental [en línea]. Estados Unidos, 1996-2001.

Picado, F., Mendoza, A., Cuadra, S., Barmen, G., Jakobsson, K., & Bengtsson, G. (2010). Ecological, Groundwater, and Human Health Risk Assessment in a Mining Region of Nicaragua. *Risk Analysis*, 916-933.

Picado, F., Mendoza, A., Cuadra, S., Barmen, G., Jakobsson, K., & Bengtsson, G. (2010). Ecological, Groundwater, and Human Health Risk Assessment in a Mining Region of Nicaragua. *Risk Analysis*, 916-933.

PILON-SMITS, E. (2005). Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 56:15-39.

Pteris vittata: preliminary results from a field study

Puga S, Sosa M, Lebgue T, r Quintana Cy Campos A.(2006) contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minerareid, R. (2001). Mechanisms of micronutrient uptake in plants. *Australian Plant Physiology*. 28, 659-666.

Purcell, T.W., and Peters, J.J. 1998. Sources of silver in the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17(4): 539-546.

Perez A, 1997: Dinamica y efectos del cobalto en el sistema suelo-planta.

Pérez, L., Moreno, A.M. y GO Gonzalez, J..2004. índices de acumulación de metales pesados en granos y hojas de trigo. Schironia. N° 3:5-9.

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar. microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente

Ratte H (1999) Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1):89–108.

Revista Química Viva Vol.2, número3, 2003 a inoculación con *Glomus intraradices* y rizobacterias en maíz en cultivo intensivo. *Terra Latinoamericana* 22: 59-69.

REID, R. (2001). Mechanisms of micronutrient uptake in plants. *Australian Plant Physiology*. 28, 659-666.

Raskin, I.; P.B.A.N. Kumar; S. Dushenkov & D. Salt. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5:285-290

Rosario P. 2004. Presencia de hongos micorrizicos arbusculares y contribucion de *glomus intraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus L*) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. descargado del citioweb. http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rosario%20Pineda%20Hernandez%20doctorado.pdf

Sancha M, 2005.F. Químico. Criterios de calidad de aguas o efluentes tratados para uso en riego.

Sierra (2006). Fitorremediación de un Suelo Contaminado con Plomo por Actividad Industrial.

Smith, E., F. A. Smith, and I. Jakobsen. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol.* 133: 16-20.

Siedlack, A., Tukendorf, A., Skórzynska-Polit, Maksymiec, W., Wójcik, M., Baszynski, T., Krupa, Z., 2001. Angiosperms (Asteraceae, Convolvulaceae, Fabaceae and Poaceae; other than Brassicaceae). En: Prasad, M.N.V. (Ed.).

Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp. 171-217.

Smith, M y Smith, R. 2007: Ecología, sexta edición, pag 95-102.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales de México (SEMARNAT), 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

T.D. Martin, C.A. Brockhoff, J.T. Creed, and S.E. Long (Technology Applications Inc.) Method 200.7, Revision 3.3 (1991).

T.D. Martin, C.A. Brockhoff, J.T. Creed, and EMMC Methods WORK Group- Method 200.7 Revision 4.4 (1994)

T.D. Martin and E.R. Martin – Method 200.7 Revision 3.0(1990).

Thorne M., Rhodes L. y Cardina J. (2013). Effectivity of arbuscular fungi collected from reclaimed mine soil and tallgrass prairie. Open Journal of Ecology. Vol 3. Nº3, 224-233.

Thorne M., Rhodes L. y Cardina J. (2013). Effectivity of arbuscular fungi collected from reclaimed mine soil and tallgrass prairie. Open Journal of Ecology. Vol 3. Nº3, 224-233.

Trouvelot A, Kough JL & Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221. (Mycocalc). (<http://www2.dijon.inra.fr/mychintecsoftware/Mycocalc-prg/download.html>).

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2002. Arsenic treatment technologies for soil, waste and water. Report EPA-542-R-02-004.

USEPA-ICP user group (Edited by T.D. Martin and J.F. Koop)- Method 200.7, Revision 1.0, (Printed 1997, Published 1982).

WEI, S.H., ZHOU, Q.X. y WANG, X. (2005). Identification of weed plants excluding the absorption of heavy metals. *Environment International* 31, 829-834.

Wernitznig S1, Adlassnig W, Sprocati AR, Turnau K, Neagoe A, Alisi C, Sassmann S, Nicoara A, Pinto V, Cremisini C, Lichtscheidl I(2013). Plant growth promotion by inoculation with selected bacterial strains versus mineral soil supplements

Wallnöfer, P.R. y G. Engelhardt. 1995. Schadstoffe aus dem Boden. 118-140 p. En: Hock, B. y E. Elstner (eds.). *Schadwirkungen auf Pflanzen*. Académica Spektrum, Berlin.

Xu, I., Yin, H., Li, Y. y Liu X. 2010. Nitric oxide is associated with long-term zinc tolerance in *Solanum nigrum*. *Plant Physiology*, Vol. 154, pp. 1319–1334.

YANG, X., FENG, Y., HE, Z., & STOFFELLA, P. m. (2005). <http://www.fitorem.unah.edu.cu/Curso%20Recuperaci%C3%B3n%20de%20C3%A1reas%20agr%C3%ADcolas%20con%20MP.%20M%C3%A9todos%20de%20estudio/materiales/Materiales%20did%C3%A1cticos/Mecanismos%20acumulaci%C3%B3n%20MP.pdf>.

XII. Glosario

Adsorción: separación de líquidos, de gases, de coloides o de materia suspendida en un medio por adherencia a la superficie o a los poros de un sólido.

Amalgama: aleación de mercurio con otro metal.

Bioacumulación: el aumento en la concentración de una sustancia en organismos vivos, debido al contacto de éste con aire, agua, o alimento contaminado, debido a la lenta metabolización y excreción.

Biolixiviación: Es el proceso en el que se da la lixiviación asistida por microorganismos, que cumplen el rol de catalizadores. La biolixiviación es una técnica usada para la recuperación de metales.

Biorremediación: Consiste en el uso de microorganismos como plantas, hongos, bacterias naturales o modificadas genéticamente para neutralizar sustancias tóxicas, transformándolas en sustancias menos tóxicas o convirtiéndola en inocuas para el ambiente y la salud humana.

Contaminante: un compuesto que a concentración suficientemente alta causa daños en la vida de los organismos.

Ensayo: estudios o pruebas previas realizadas para conocer las capacidades de adaptación de *Paspalum conjugatum* a otros ambientes y sustratos

Entrenudo: parte del tallo entre dos nudos de donde sale otra rama.

Estolón: tallos que crecen en la superficie del suelo o por debajo del suelo que forman raíces adventicias en los nudos, y las nuevas plantas de los cogollos.

Fitorremediación: Conjunto de métodos para degradar, asimilar, metabolizar o detoxificar metales pesados y compuestos orgánicos basado en los procesos que ocurren naturalmente por los cuales las plantas y los microorganismos rizosféricos degradan y secuestran contaminantes .

Hongos micorrizíticos arbusculares: Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos del suelo que viven simbióticamente con la mayoría de plantas. Ellos les aportan beneficios, dándoles ventajas con respecto a las plantas no micorrizadas, como por ejemplo facilitándole a la planta la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo, evitando la acción de microorganismo patógenos en la raíz, aumentando la tolerancia de la planta a condiciones de stress abiótico en el suelo, entre otros beneficios. "

ICP: Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente

Indicador: cualquier entidad biológica o proceso, o comunidad cuyas características muestren la presencia de las condiciones ambientales específicas o contaminación.

Materia orgánica: sustancias de material de plantas y animales muertos, con estructura de carbono e hidrógeno.

Metal pesado: metal que tiene una densidad de 5.0 o mayor y elevado peso elemental. La mayoría son tóxicos para el ser humano, incluso a bajas concentraciones.

Mineral: roca u otro elemento del terreno que contiene metales o metaloides aprovechables, generalmente combinados y mezclados con gangas (materiales de desecho, casi siempre arcilla y minerales silicatos).

pH: el valor que determina si una sustancia es ácida, neutra o básica, calculado por el número de iones de hidrógeno presente. Es medido en una escala desde 0 a 14, en la cual 7 significa que la

Planta exclusora: La exclusión previene la entrada de metales o mantienen baja y constante la concentración de éstos en un amplio rango de concentraciones en el suelo, principalmente restringiendo la acumulación de los metales en las raíces"

Planta indicadora: es un organismo indicador que puede ser señal de un cambio en la condición biológica de un ecosistema en particular, y por lo tanto pueden ser utilizadas como un puente para diagnosticar la salud de un ecosistema.

Plantas hiperacumuladoras: Una planta hiperacumuladora es una planta capaz de crecer en suelos con grandes concentraciones de metales pesados, concentraciones que resultan tóxicas incluso para especies cercanamente emparentadas a la misma. Estas plantas extraen el metal del suelo a través de sus raíces y lo concentran hasta niveles extremadamente altos en sus tejidos

Sedimento: Material sólido en forma de partículas, granos o pequeños bloques, depositado sin consolidar tras un proceso de arranque, suspensión y transporte, ocasionado por agentes erosivos actividades antropogénicas.

Sombreadero: estructura creada para proteger a las plantas de las variaciones en las intensidades de luz.

Textura: La textura indica el contenido relativo de partículas de diferente tamaño, como la arena, el limo y la arcilla, en el suelo. La textura tiene que ver con la facilidad con que se puede trabajar el suelo, la cantidad de agua y aire que retiene y la velocidad con que el agua penetra en el suelo y lo atraviesa.

Traslocar: acción de ser transportado de un lugar a otro.