

T. Prov. 24/6

T  
13  
59

**UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL**



UNIVERSIDAD DE GRANADA  
Facultad de Ciencias  
Fecha 29/03/01  
ENTRADA EN P. 1552

**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA  
RADICULAR SOBRE LA FITOACUMULACIÓN EN  
DIFERENTES ÓRGANOS DE PATATA (*Solanum  
tuberosum* L. var. Spunta)**

**TESIS DOCTORAL**

**Mourad Baghour**

**Granada, 2001**

**BIBLIOTECA UNIVERSITARIA  
GRANADA  
Nº Documento 613375520  
Nº Copia LC1193952**

*A mis padres, por todo*

# **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi sincero agradecimiento:

Al Dr. **Luis Maria Romero Monreal**, Director de esta Tesis Doctoral, que me dio la posibilidad de realizar este trabajo y me ofreció toda su comprensión, su dedicación, ayuda y magníficos consejos y orientaciones. Muchas gracias.

Al Dr. **Diego A. Moreno** y Dra. **Gemma Villora**, su apoyo, ayuda técnica y colaboración que han mostrado durante el desarrollo de este trabajo, su ayuda en los momentos más difíciles y por amistad que me brindaron. Muchas gracias.

Al Dr. **Juan M. Ruiz** y a la Dra. **Inmaculada López-Cantarero**, por su amistad, confianza y apoyo en mi trabajo. Muchas gracias.

A mis compañeros, y amigos, de este magnífico grupo de investigación de Nutrición Vegetal del que formo parte: **Lamia Ragala, Esteban Sánchez, Gregoria Pulgar, Rosa Rivero, Pablo Garcia, Luis López-Lefebre, Silvia Rubio, Francisco Cara y Carlos** que siempre me han echado una mano cuanto los he necesitado y por haberme dado su apoyo en todo momento. Muchas gracias a todos.

A **Bendición Funes**, del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, por toda su labor con las técnicas de análisis. Gracias .

A **mis padres**, por estar ahí en todo momento, por su confianza depositada en mí desde el comienzo de este trabajo, por su entrega, dedicación, cariño, sacrificio y entereza, Muchas gracias.

A mis hermanos, **Jamila, Hayat, Kamal, Leila y Ali**, por apoyarme en todo momento en el transcurso de este trabajo, por el esfuerzo que han realizado, por su comprensión. Muchas gracias.

A mis tios y especialmente a **Baghour Mustapha** y su esposa y **Baghour Ahmida** y su esposa, por su apoyo, ánimos y ayuda. Muchas gracias.

A mis primos Abdel Hakim, Nadia, Marouane, Badr, Houssaine, Siham, Ahlam y Iman por su apoyo y ánimo. Gracias.

A Kaoutar Ben Chekroun, por estar a mi lado en todos los momentos, por su cariño, apoyo y confianza en mí y por su colaboración cuando más lo necesité y por haber compartido conmigo tantas y tan buenas experiencias. Muchas gracias

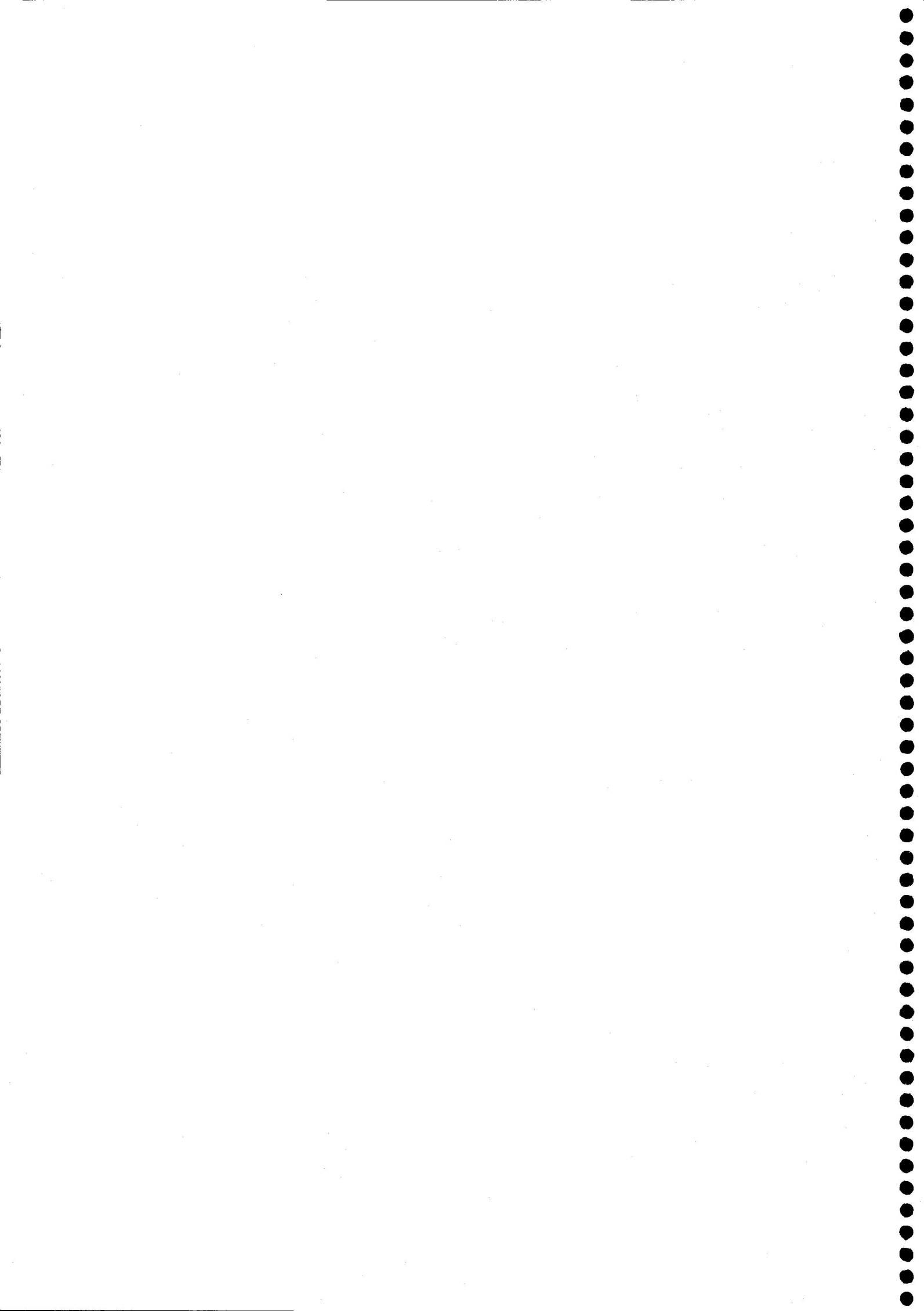
A todos mis amigos y amigas de Nador y Granada y especialmente a Mimoun, Ali, Hassan, Samira, por su apoyo incondicional e interés constante, Gracias.

A los profesores de la Universidad Mohamed I, Oujda, Marruecos, especialmente a **Tahri el Hossein**, por su ayuda y ánimos. Muchas gracias.

Al resto de mis familiares y amigos, por su interés, Muchas gracias a todos.



# ÍNDICE



	Página
1.- INTRODUCCIÓN.....	9
1.1.- Generalidades.....	11
1.2.- Micronutrientes y metales pesados en suelos.....	12
1.2.1.- Acumulación de metales pesados en suelos.....	13
1.2.2.- Movilidad de los metales pesados en suelos. ....	13
1.2.3.- Factores que controlan la disponibilidad y la asimilabilidad de los metales pesados en suelos.....	15
1.2.3.1.- pH.....	15
1.2.3.2.- Materia orgánica.....	16
1.2.3.3.- Textura.....	17
1.2.3.4.- Microorganismos.....	18
1.2.3.5.- Temperatura.....	19
1.2.3.6.- Humedad.....	20
1.2.4.- Influencia de los metales pesados sobre la diversidad de la comunidad microbiana en el suelo.....	20
1.3.- Toxicidad de los micronutrientes y metales pesados en plantas.....	22
1.3.1.- Toxicidad de micronutrientes.....	22
1.3.2.- Toxicidad de metales pesados.....	27
1.4.- Fitorremediación.....	35
1.4.1.- Definición y tipos de fitorremediación.....	35
1.4.2.- Fitoextracción de metales.....	38
1.4.2.1.- Fitoextracción inducida.....	41
1.4.2.2.- Fitoextracción continua.....	44
1.4.2.3.- Mecanismos de resistencia a metales.....	47
1.4.2.4.- Biodisponibilidad, absorción radical y acumulación de metales en la parte aérea.....	52
1.4.3.- Fitovolatilización de metales.....	55
1.4.4.- Fitorremediación de contaminantes orgánicos.....	56
1.4.4.1.- Absorción directa y metabolismo de compuestos orgánicos.....	57



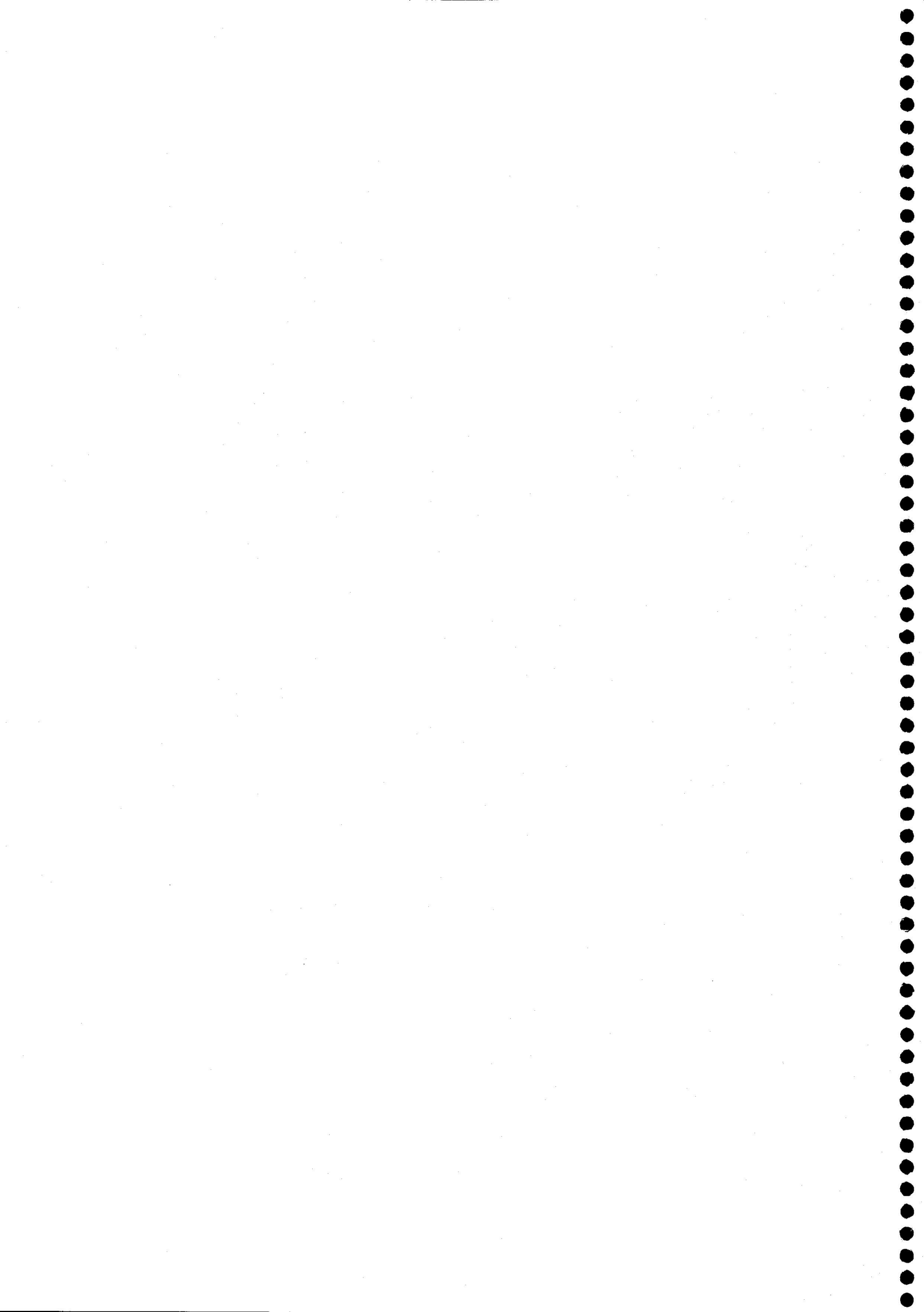
1.4.4.2.- Fitorremediación ex Planta.....	60
1.4.4.3.- Conclusiones: Del laboratorio al campo.....	62
1.4.5.- Fitoacumulación.....	63
1.5.- El contenido de algunos metales pesados en plantas comestibles y su riesgo sobre la salud humana.....	65
1.6.- Beneficios del acolchado de suelos en horticultura.....	68
1.7.- Efecto de la temperatura radicular sobre la producción y absorción de los micronutrientes y metales pesados y otros elementos.....	69
2.- OBJETIVOS.....	73
3.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	77
3.1.- Características de la especie estudiada.....	79
3.2.- Características del cultivo.....	80
3.2.1.- Tratamientos.....	81
3.3.- Parámetros ambientales.....	82
3.3.1.- Parámetros meteorológicos.....	82
3.3.2.- Análisis fisicoquímico de suelo.....	84
3.3.2.1.- Análisis físico granulométrico de las muestras del suelo.....	84
3.3.2.2.- Análisis químico de las muestras del suelo.....	85
3.3.3.- Análisis de agua de riego.....	87
3.4.- Toma de muestras vegetales y su preparación.....	88
3.4.1.- Análisis del material vegetal fresco.....	92
3.4.1.1.- Pigmentos foliares.....	92
3.4.1.2.- Fenoles.....	93
3.4.1.2.1.- Orto-difenoles.....	93
3.4.1.2.2.- Fenoles totales.....	93
3.4.1.3.- Acidez iónica.....	93
3.4.1.4.- Ácido ascórbico.....	94
3.4.1.5.- Ácido cítrico.....	94
3.4.1.6.- Actividades enzimáticas.....	94

3.4.1.6.1.- Actividades Peroxidasa y Catalasa.....	94
3.4.1.6.2.- Actividad Fe-Quelato reductasa.....	95
3.4.1.6.3.- Actividad Polifenoloxidasas.....	95
3.4.1.6.4.- Actividades Ribonucleasa.....	96
3.4.1.6.4.1.- Actividad Ribonucleasa inicial.....	96
3.4.1.6.4.2.- Actividad Ribonucleasa inducida con Zn.....	97
3.4.1.6.5.- Ácido Ascórbico Oxidasa.....	97
3.4.1.6.5.1.- Ácido Ascórbico Oxidasa inicial.....	97
3.4.1.6.5.2.- Ácido Ascórbico Oxidasa inducida con Cu.....	97
3.4.1.6.6.- Actividad Nitrato Reductasa.....	98
3.4.1.6.6.1.- Actividad Nitrato reductasa inicial.....	98
3.4.1.6.6.2.- Actividad Nitrato reductasa inducida con $\text{NO}_3^-$ .....	98
3.4.1.6.6.3.- Actividad Nitrato reductasa inducida con Mo.....	99
3.4.1.6.6.4.- Actividad Nitrato reductasa inducida con $\text{NO}_3^-$ y Mo.....	99
3.4.1.6.7.- Actividad Ureasa.....	99
3.4.2.- Análisis del material vegetal seco.....	100
3.4.2.1.- Mineralización por vía húmeda con ácido nítrico.....	100
3.4.2.1.1.- Determinación de elementos totales.....	100
3.4.2.2.- Determinación de elementos solubles.....	102
3.4.2.2.1.- Extracción en medio ácido.....	102
3.4.2.2.2.- Extracción en medio acuoso.....	102
3.4.2.3.- Hidratos de carbono no estructurales.....	103
3.4.2.4.- Fracciones de pectinas.....	103
3.4.2.5.- Fracciones de Paredes Celulares.....	105
3.5.- La producción.....	108
3.6.- Análisis Estadístico de los Resultados.....	108
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	109
4.1.- Parámetros ambientales.....	111
4.1.1.- Temperaturas.....	111
4.1.2.- Radiación Solar.....	115
4.1.3.- Humedad relativa.....	116

4.1.4.- Análisis del suelo.....	116
4.1.4.1.- Análisis físico.....	117
4.1.4.2.- Análisis químico.....	118
4.1.5.- Agua de Riego.....	122
4.2.- Biomasa y calidad.....	128
4.2.1.- Producción de biomasa y rendimiento del cultivo.....	128
4.2.2.- Parámetros de calidad.....	135
4.2.2.1.- Pigmentos foliares.....	135
4.2.2.2.- Hidratos de carbono no estructurales.....	136
4.2.2.3.- Ácidos orgánicos y acidez iónica.....	141
4.3.- La concentración y acumulación de micronutrientes y otros elementos y su relación con algunos parámetros fisiológicos y bioquímicos.....	145
4.3.1.- Fe y Mn.....	145
4.3.1.1.- Concentración y bioindicadores.....	145
4.3.1.2.- Fitoacumulación.....	156
4.3.2.- Mo, nitrato reductasa y las formas del Nitrógeno.....	163
4.3.2.1.- Concentración de Mo y bioindicadores.....	163
4.3.2.2.- Fitoacumulación.....	178
4.3.3.- Ni, Co y ureasa.....	182
4.3.3.1.- Concentraciones de Ni y Co y actividades ureasa.....	182
4.3.3.2.- Fitoacumulación.....	188
4.3.4.- B, Al y sus bioindicadores.....	194
4.3.4.1.- Concentraciones de B, Al y sus bioindicadores.....	194
4.3.4.2.- Fitoacumulación.....	207
4.3.5.- Cu, Zn, Cd y Pb. Bioindicadores y componentes de la pared celular.....	213
4.3.5.1.- Concentraciones de Cu, Zn, Cd y Pb.....	213
4.3.5.2.- Actividades ácido ascorbico oxidasa y ribonucleasa foliares.....	223
4.3.5.3.- Fracciones de la paredes celulares.....	226
4.3.5.4.- Fitoacumulación.....	233
4.3.6.- Se y formas del azufre.....	242
4.3.6.1.-Concentraciones.....	242

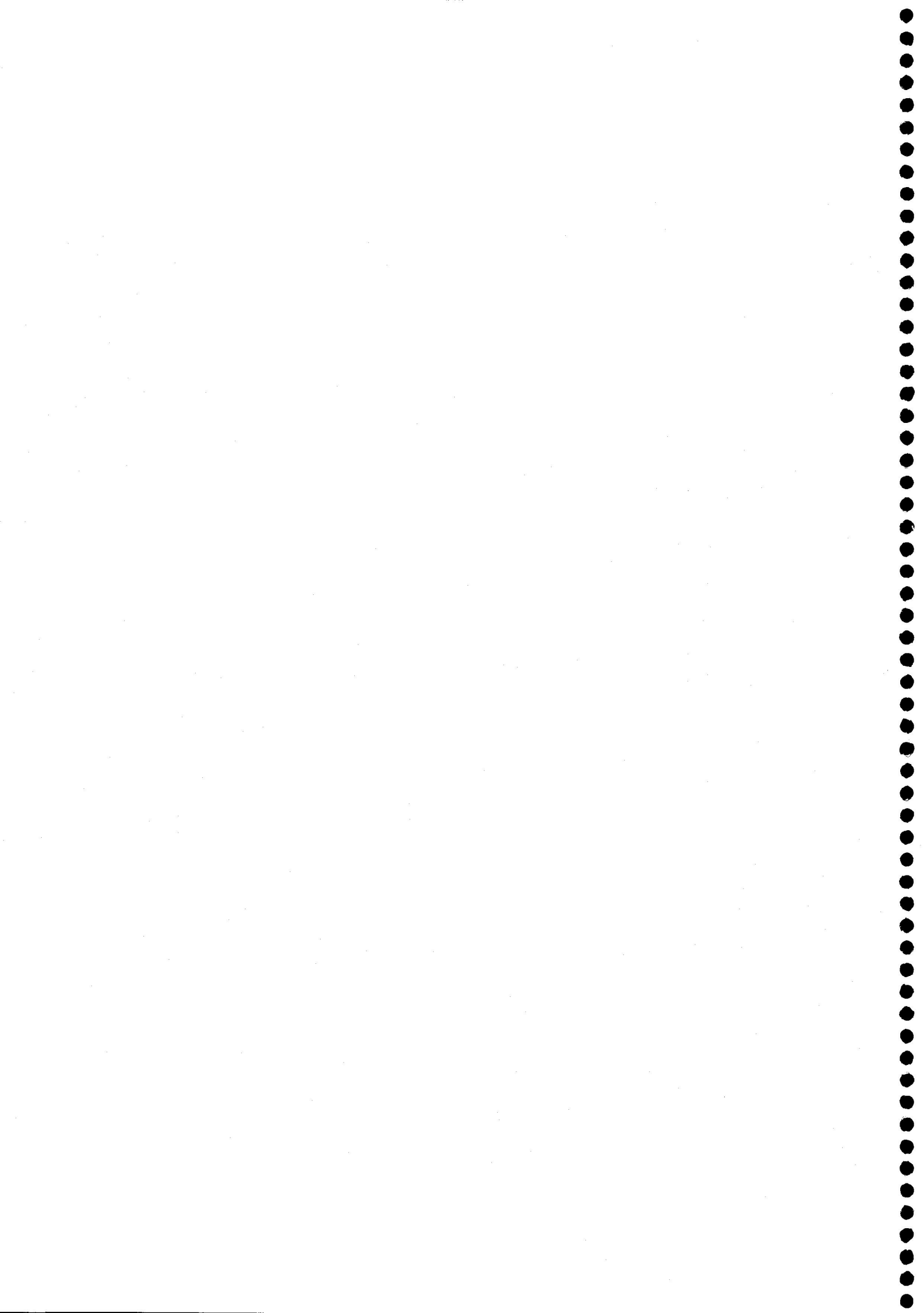
---

4.3.6.2.- Fitoacumulación.....	249
4.3.7.- As, Sb, Ag y Cr.....	254
4.3.7.1.- Concentraciones.....	254
4.3.7.2. Fitoacumulación.....	264
4.3.8.- Cl, Ba, Sn, Pt y Rb.....	274
4.3.8.1.- Concentraciones.....	274
4.3.8.2. Fitoacumulación.....	285
5.- CONCLUSIONES.....	295
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	299





# **1.- INTRODUCCIÓN**



## 1.1.- Generalidades.

Hay 17 elementos actualmente, en la tabla periódica conocidos como imprescindibles para todas las plantas superiores (Asher, 1991). De estos elementos esenciales, 9 son macronutrientes (C, H, O, N, K, Ca, Mg, P, y S), que están normalmente presentes en los tejidos de la planta a concentraciones mayores de un 0.1% en peso seco. Ocho micronutrientes (definidos como elementos esenciales por que se requieren a concentraciones de menores de 100 µg/g en peso seco) se reconocen ahora como esenciales para todas las plantas superiores, B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, y Zn (Welch, 1995; Marschner, 1995). Otros elementos no esenciales tales como Cd, Hg, Pb, Se, Cr, etc. son también de interés porque concentraciones elevadas de los mismos en los suelos y en las aguas de riego representan un peligro potencial para la producción agrícola y para la salud del hombre y los animales (Urbano et al., 1998).

El interés sobre el estudio de micronutrientes en las plantas ha experimentado una escalada en la última década debido a recientes investigaciones que demuestran sus papeles en la resistencia a enfermedades y a diversos estrés (Graham y Webb, 1991) además de que las plantas es una fuente importante de estos elementos esenciales para animales y humanos (Miller et al., 1991; Van Campen, 1991; Nielsen, 1992) y la posibilidad de que pueden descubrirse más elementos como esenciales para todas las plantas superiores (Nielsen, 1992; Welch, 1995)

Otros elementos son considerados como esenciales para algunas especies vegetales que crecen bajo condiciones medioambientales específicas. Por ejemplo, el Co es un elemento esencial para la fijación simbiótica del N en leguminosas y otras especies de plantas dependientes del nitrógeno atmosférico para satisfacer sus requerimientos en N (Welch, 1995).



## 1.2.- Micronutrientes y metales pesados en suelos.

La cantidad de un determinado micronutriente en la solución del suelo como ion libre o como complejo soluble en forma de quelato, está influenciada por las reacciones químicas relacionadas con la formación de precipitados insolubles y por las transformaciones de los microorganismos (Loué, 1988; Morgan y Mascagni, 1991), además de la reserva del suelo, el contenido de materia orgánica, pH, estado de oxidorreducción, humedad y aireación del suelo así como las variaciones estacionales (Loué, 1988).

El contenido total en microelementos y metales pesados de los suelos, no contaminados, depende de la composición de la roca madre (Graham, 1953), de la descomposición sufrida por ésta (Swaine et al., 1960). y de las condiciones pedoclimáticas de la formación de dichos suelos (Pais, 1980). Hay otros factores que condicionan el contenido del suelo en micronutrientes y metales pesados, entre ellos, las aguas residuales (Loué, 1988).

Sin embargo en suelos contaminados, las fuentes de contaminación son numerosas (Tiller, 1989), y pueden reducirse en cuatro categorías importantes:

1. El aporte de elementos pesados, que puede provenir de actividades industriales, mediante depósito de materiales contaminantes y por gases de automoción (Gómez-Miguel et al., 1998).
2. El aporte de iones  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{NH}_4^+$  (Pierzynski et al., 1994). La llamada "lluvia ácida" de pH inferior a 5.5, que suele originarse por las actividades industriales como la generación de la energía eléctrica mediante la combustión de carbonos (Tiller, 1989)
3. El aporte excesivo de iones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{2-}$ , procedentes de los fertilizantes (Pierzynski et al., 1994).
4. La contaminación microbiana causada por el uso de aguas de riego, provenientes de aprovechamiento urbano e industriales, que son una de la causa más graves de contaminación orgánica, tanto bacteriana, como vírica (Otero, 1985; 1988).

Otra forma de contaminación edáfica viene dada por el compost. Este proporciona al suelo materia orgánica estabilizada, y nutrientes importantes para el cultivo, sin

embargo, puede existir riesgo de contaminación, por la presencia de metales pesados y compuestos orgánicos (García, 1990).

### **1.2.1.- Acumulación de metales pesados en suelos.**

La incorporación de residuos de cultivos es un factor importante en el mantenimiento de los niveles de micronutrientes en el suelo. Los agentes quelantes producidos por microorganismos, o excretados por las raíces, están relacionados con la mineralización de las rocas y funcionan como transportadores de micronutrientes a las raíces (Mori, 1999).

La acumulación de metales pesados en suelos puede originarse de distintas formas, entre ellas, la industrialización y rápida urbanización, que en muchos países, puede ser la causa mayor del aumento en el nivel de metales en el medio ambiente (Bergomi et al., 1987; Tennant, 1987). Frecuentemente se han encontrado suelos de jardines urbanos contaminados con Cd, Pb y otros metales (Davis, 1978; Spittler and Feded, 1979; Davies y Ballinger, 1990).

Las fuentes más comunes de contaminación de los suelos, en áreas urbanizadas, son: el aumento en el número de automóviles, las actividades industriales y las aplicaciones como el lodo de aguas residuales o estiércoles para mejorar las condiciones del suelo, o como fuente de nutrientes para las plantas, pueden ser también una fuente potencial de metales pesados (Webber et al., 1983; De Pieri et al., 1997).

Los gases de la atmósfera: adyacente a las carreteras (Wong et al., 1984), de las emisiones de las incineraciones industriales, la combustión de energía fósil y neumáticos desgastados, son fuentes de contaminación de metales pesados como Pb, Zn, Ni, y Cu (Page y Bingham, 1973).

### **1.2.2.- Movilidad de los metales pesados en suelos.**

Salvo en suelos muy ácidos, los metales pesados son poco solubles y aparecen predominantemente adsorbidos o insolubles, por lo que el movimiento de estos en los suelos

ha sido considerado generalmente mínimo o prácticamente no existente (Dowdy y Volk, 1983). William et al. (1987) no encontraron ningún movimiento significativo de Cd, Cu, Pb, y Zn en suelos tratados con lodos durante 8 años.

Chang et al. (1984), demostraron que más del 90% de los metales pesados aplicados se encontraban en los primeros 15 cm del suelo. En suelos naturales, los niveles de Cd y Pb aumentaban en la parte superior del perfil del suelo, y los modelos de distribución de estos elementos eran similares a los de la materia orgánica (Andersson 1977).

Page y Chang (1985) mostraron que, en la mayoría de los casos, los elementos trazas (refiriéndose a metales pesados) adicionados como diferentes tipos de residuos sólidos y desechos, o se retuvieron entre diferentes capas de tierra y basura, o se movieron sólo unos centímetros bajo la capa tratada. Sin embargo, Shirado et al. (1986), descubrieron que el Zn, Ni, y Cd emigraban de la zona cultivada del suelo hasta las capas más profundas en suelos areno-limosos con la ayuda de altas precipitaciones. Dowdy y Volk (1983) demostraron que el movimiento de metales pesados en los suelos puede ocurrir en suelos arenosos y ácidos con niveles bajos de materia orgánica, y sometidos a fuertes lluvias irrigación excesiva.

Después de 14 años de aplicaciones de lodos, Dowdy et al. (1991), encontraron un pequeño movimiento descendente de Cd y Zn en el perfil del suelo. Los resultados de Stevenson y Welch (1979), mostraron que el acetato de Pb, aplicado al suelo, emigraba hasta por lo menos 90 cm de profundidad en menos de 7 años.

El movimiento de los metales pesados junto con el agua en los suelos, requiere que el metal esté en la fase soluble, o asociado con partículas móviles. Se ha demostrado que metales como Zn y Cu, forman complejos con los ácidos húmicos a niveles de pH entre 4.5 y 5.0 (Waller y Pickering 1992). Así, las partículas orgánicas pueden formar complejos con los metales en la parte superior del perfil del suelo y ser transportados descendentemente en forma orgánica cambiante (McBride, 1989; Petruzzelli y Lubrano, 1994). Por consiguiente, el movimiento se relaciona esencialmente con las formas fisicoquímicas de los metales en el

suelo, porque éstas tienen potenciales diferentes para la movilización por ligandos orgánicos o inorgánicos en la solución del suelo (Li y Shuman 1996).

Las fracciones solubles en agua y cambiables (y a veces las fracciones orgánicas) de los metales, se consideran normalmente las formas disponibles para las plantas (Petruzzelli, 1989; Shuman 1991), que a su vez, son las formas potencialmente móviles y perjudiciales para el medio ambiente. Los ácidos orgánicos en las partes superficiales del suelo pueden solubilizar metales en la fracción de óxidos de Fe y de Mn, proporcionando así una oportunidad de entrar en el perfil descendentemente y ser readsorbidos en los complejos de intercambio (Worthington y Evans 1990).

### **1.2.3.- Factores que controlan la disponibilidad y la asimilabilidad de los metales pesados en suelos.**

Las características del suelo como el pH, humedad, temperatura, textura, el contenido en materia orgánica, son factores muy importantes que pueden influir sobre la disponibilidad y la absorción de los metales (Tack y Verloo, 1996).

#### **1.2.3.1.- pH.**

El pH del suelo se conoce como parámetro importantísimo en el control de la disponibilidad y en el incremento de la absorción de los metales (Adriano, 1986; Alloow y Jackson, 1991). a través de su influencia en la solubilidad de dichos elementos-traza. En el rango de pH de 5 a 8, Cu, Fe, Mn, y Zn están más disponibles para las plantas cuando el pH está cerca de 5. Lo contrario ocurre para el Mo. El pH es importante en la solubilidad del Fe y Mn. La concentración de Cu, Fe, Mn, y Zn en plantas de soja se correlacionaron negativamente con el pH del suelo, cuando este se incrementó de 5.1 a 6.47 (Mills y Jones, 1996). Los procesos de oxidación-reducción también están, en cierto modo, influenciados por el pH (Urbano et al., 1998). La solubilidad de los metales pesados en la solución del suelo es mayor a valores bajos del pH, y con la mayor solubilidad de estos metales, se incrementa su disponibilidad, ya que existe una relación estrecha entre la concentración de los metales en las plantas y el pH del suelo (Han y Lee, 1996).

Mills y Jones, (1996) sugirieron, que el incremento del pH reduce la solubilidad y absorción de metales como Al, Co, Cu, Fe, Zn, y Mn, aumentando la del Mo. Mientras que Tack y Verloo (1996), no encontraron ninguna relación perceptible entre el pH del suelo y los elementos estudiados, sugiriendo que el pH del suelo es uno de los numerosos factores que controlan la absorción de metales, pero también el resto de parámetros físicos o químicos del suelo y las condiciones climáticas de humedad, temperatura, y radiación durante el crecimiento, etc.

Las plantas crecidas en el suelo con el valores de pH= 5.5, acumularon grandes cantidades de Cd, tres veces más que plantas crecidas a valores de pH entre 6.5 y 7.5 (Zaurov et al., 1999). El pH también influye en el contenido en materia orgánica del suelo, ya que los valores de este permiten una evolución elevada de la materia orgánica y se sitúan entre 6 y 7.2. Las condiciones resultan poco favorables cuando el pH desciende a 5.5 o se eleva hasta 7.8 (Urbano et al., 1998).

#### **1.2.3.2.- Materia orgánica.**

Los suelos contienen cantidades variables de materia orgánica, y ésta aparece en los ecosistemas naturales como consecuencia de la actividad de los seres vivos (Dominguez, 1997). Está constituida por la mezcla de microorganismos (biomasa microbiana), restos vegetales y animales en diferente grado de descomposición. Las materias orgánicas frescas, o poco descompuestas, sufren una primera acción microbiana que las transforma en humus (humificación) para, en una segunda etapa, continuar descomponiéndose hasta convertirse en elementos minerales (mineralización) (Urbano et al., 1998).

La incorporación de materia orgánica al suelo, produce mejoras muy importantes en las propiedades física, químicas y biológicas del suelo (Clapp, 1986), traduciéndose en un aumento de la productividad (Bartoli et al., 1992).

Ésta juega un papel imprescindible en la nutrición de los cultivos, puesto que contiene una fuerte proporción de micronutrientes asimilables. Los suelos pobres en materia orgánica

tienen tendencia a serlo en microelementos (Loué, 1988), ya que la formación de complejos organo-metálicos afecta al comportamiento de los micronutrientes de dos maneras contrapuestas: la formación de complejos por materia orgánica insoluble, disminuye la disponibilidad, mientras que la formación de complejos solubles la favorece (Urbano et al., 1998).

La materia orgánica tiene la propiedad de formar complejos con los cationes. Puede formar combinaciones estables con iones metálicos, contiene un 10-13% del N orgánico que, normalmente, se libera rápidamente durante la mineralización (Ciavatta et al., 1997). Las plantas son capaces de absorber numerosas formas de microelementos ligados a la materia orgánica, ya que ésta última incrementa la capacidad de intercambio catiónico en el suelo (Kuo, 1990). La incorporación de una fuente de materia orgánica al suelo produce un crecimiento microbiano que, como consecuencia de su metabolismo, produce un desprendimiento de CO<sub>2</sub>. La evaluación de este proceso se ha propuesto como un índice de la actividad microbiana y del grado de transformación de materia orgánica (Nannipieri et al., 1990).

### 1.2.3.3.- Textura.

Es una de las características más importantes del suelo y determina, de algún modo, el grado de actividad físico-química del mismo (Dominguez, 1997). La textura del suelo puede influir sobre la concentración de los nutrientes, ya que ésta ha sido a menudo asociada a las cantidades de microelementos asimilables (Maples y Keogh, 1973; Constable y Rochester, 1989; Maples et al., 1990).

El efecto de la textura sobre la asimilabilidad relativa, es decir sobre la relación microelemento soluble-microelemento total, no ha sido estudiada ampliamente (Loué, 1988). En estudios suelos de Finlandia, se ha constatado una disminución significativa de las cantidades de Co, Cu y Mn solubles, en función de un contenido creciente de elementos gruesos, pero no el caso de Zn (Sillanpää, 1972). La textura tiene un efecto significativo sobre el estado del B en la planta (Gupta y Gupta, 1998).

#### **1.2.3.4.- Microorganismos.**

La actividad microbiana influye sobre la asimilabilidad de los microelementos. Hodgson (1963), descubrió los efectos de los microorganismos del suelo sobre: (i) la liberación de iones durante la descomposición de la materia orgánica, (ii) la inmovilización de éstos por incorporación a microorganismos, (iii) la oxidación de elementos en una forma menos asimilable, (iv) la reducción de la forma oxidada de un elemento, en medio reductor, y (v) las transformaciones indirectas debidas a los efectos sobre el pH.

El efecto de los microorganismos sobre la absorción de microelementos resulta de la descomposición de las formas orgánicas, o de una competencia directa en la absorción. La deficiencia de Zn en árboles frutales se agravaba por el efecto de la competencia de ciertos microorganismos (Loué, 1988). La actividad microbiana puede controlar en parte, el estado de oxidación del Mn, por intermedio de su efecto sobre el potencial de oxidación.

En el suelo, los microorganismos desarrollan una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y la nutrición vegetal. Las actividades metabólicas de poblaciones microbianas estimuladas en la rizosfera, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, son de vital importancia para el desarrollo de las plantas (Barea y Azcón-Aguilar, 1982).

Las acciones que desarrollan los microorganismos en la rizosfera, y que resultan beneficiosas en los sistemas suelo-planta, pueden concretarse en las siguientes: (i) Estimulación de la germinación de semillas y del enraizamiento, mediante la producción por los microorganismos de: fitoestimuladores, hormonas, vitaminas y otras sustancias; (ii) incremento en el suministro/disponibilidad de nutrientes. Este efecto deriva del protagonismo de los microorganismos (biofertilizantes) en los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes; (iii) mejora de la estructura del suelo, consecuencia de la contribución microbiana a la formación de agregados estables (mejoradores del agroecosistema); (iv) protección de las plantas a frente a estreses bióticos y abióticos, a través de la actividad microbiana en fenómenos de antagonismo microorganismo-microorganismo (biopesticidas, agentes de control biológico de patógenos), o de eliminación de productos

xenobióticos (biorremediadores), o incremento de la resistencia/tolerancia a salinidad, sequía, degradación de sistemas, (mejoradores ecofisiológicos), etc. (Barea y Olivares, 1998)

#### 1.2.3.5.- Temperatura.

La temperatura edáfica influye de una manera significativa sobre el crecimiento de la parte radical de las plantas (Cooper, 1973; Abbas Al-Ani et al., 1983), induciendo a una mayor absorción de nutrientes (Bland, 1993), Los cambios en la morfología de las raíces, así como los cambios en la temperatura, se caracterizan por las diferencias en las longitudes de las raíces, el peso seco y la ramificación (McMichael y Burke, 1998).

En general, el crecimiento de la parte radical aumenta con la elevación de la temperatura del suelo, hasta un óptimo, por encima del cual se produce una disminución del crecimiento (Brar et al., 1970; Pearson et al., 1970; Glinski y Lipiec, 1990). La temperatura óptima para el crecimiento de plantas de algodón (*Gossypium hirsutum*) era de 28 y 35 °C, y en plantas de girasol (*Helianthus annuus*) de 23 y 25 °C (McMichael y Quisenberry (1993), cada especie vegetal tiene su necesidad térmica radicular y aérea.

Los cambios morfológicos en el crecimiento de la parte radical pueden ocurrir como resultado de la interacción entre la temperatura del suelo, con otros factores de éste, como actividades patogénicas. El desarrollo de raíces laterales en plantas jóvenes de algodón se incrementa significativamente a bajas temperaturas (15 °C) y cuando las plántulas crecieron en suelos estériles en ausencia de patógenos (McMichael y Burke, 1998).

El impacto de la temperatura edáfica sobre el funcionamiento del sistema radical ha sido estudiado en algunas plantas (Engels y Marschner, 1996). A las bajas temperaturas del suelo, la absorción de agua y de nutrientes por el sistema radical se ve reducida (Nielson, 1974) y se observó también una disminución en actividades enzimáticas como la nitrato reductasa (Vasilieva, 1999), así como, una disminución en el crecimiento de la parte aérea (Ryppö, 1998). Sin embargo, altas temperaturas, pueden ser perjudiciales, conduciendo a



disminución en la concentración de elementos minerales absorbidos y finalmente una reducción en el crecimiento (Huang y Xu, 2000).

#### **1.2.3.6.- Humedad.**

Los efectos de la humedad del suelo sobre la concentración de elementos minerales, depende del nivel del grado de éste. El incremento en humedad por encima del “punto de marchitez” hasta el nivel de capacidad del campo, tiende a aumentar la disponibilidad de algunos elementos, especialmente Ca y B, mientras que el contenido de P, Mg, K, N y S, derivados de la descomposición de la materia orgánica, puede también reducirse por exceso de humedad (Mills y Jones, 1996).

Boselli et al. (1998), observaron que la composición iónica del limbo foliar no se afectó por variaciones de la humedad del suelo, a excepción del Fe y del Ca cuyo contenido en bayas y hojas fue muy alta en condiciones de humedad alta, condiciones que son favorables para un metabolismo intenso en la planta entera. Mientras que Adams y Hand (1993), encontraron situaciones de deficiencia de Ca en condiciones de alta humedad edáfica.

El incremento de la humedad puede tener un efecto positivo, negativo, o neutro, sobre la concentración de elementos minerales en las plantas, dependiendo de los niveles de nutrientes en el sustrato y de la etapa del crecimiento del vegetal (Mills y Jones, 1996). Bajo condiciones de alta humedad del suelo, la absorción de nutrientes se reduce a causa de su lixiviación en la rizosfera (Ardkani et al., 1977), mientras que bajo condiciones de escasa humedad, conducen a disminuciones en: la transpiración, el crecimiento foliar y en la fotosíntesis (Greenway y Klepper, 1968; Karrou y Maranville, 1994).

#### **1.2.4.- Influencia de los metales pesados sobre la diversidad de la comunidad microbiana en el suelo.**

La mineralización de la materia orgánica se lleva a cabo por una gran comunidad de organismos e involucra una amplia gama de procesos metabólicos. Los cambios en la

composición o actividad de la comunidad microbiana se deben a la contaminación, y los efectos a largo plazo podrían dar lugar a la destrucción del ecosistema (Perry et al. 1989).

Los metales pesados afectan al crecimiento, la morfología y el metabolismo de los microorganismos del suelo, a través de desequilibrios funcionales, por la desnaturalización de proteínas o destrucción de la integridad de las membranas celulares (Leita et al., 1995).

La respuesta de los microorganismos a los metales pesados se midió en el suelo estimando: (i) el tamaño de la biomasa microbiana (Brookes and McGrath, 1984; Chander and Brookes, 1993; Brookes, 1995), (ii) la composición de fosfolípidos en ácidos grasos (Frostegard et al., 1993), (iii) la estructura de las comunidades de microfauna (Nordgren et al., 1985) y (iv) respiración y actividades enzimáticas (Tyler, 1981; Babich and Stotzky, 1982; Baath, 1989; Nannipieri, 1994).

Tyler (1981), encontró una correlación negativa entre las actividades de enzimas en el suelo, y el contenido de metales pesados, especialmente Cu, Pb y Zn. Por el contrario, el Pb y el Cd, causaron incrementos y disminuciones en la actividad de la xilanas, ureasa y fosfatasa, dependiendo del nivel de contaminación y de la duración del experimento (Brunner and Schinner, 1984). En general, el grado de inhibición varía con la concentración y la forma del metal adicionada al suelo en cuestión y con la enzima estudiada (Ladd, 1985; Nannipieri, 1994).

Además, la razón Carbono microbiano/Carbono del suelo fue un índice fiable para evaluar la contaminación de metales pesados, y era más sensible que otros parámetros, como el carbono microbiano o el carbono orgánico total, por separado (McGrath, 1994; Brookes, 1995; Leita et al., 1995).

### 1.3.- Toxicidad de los micronutrientes y metales pesados en plantas.

#### 1.3.1.- Toxicidad de micronutrientes.

Los síntomas de la toxicidad de micronutrientes han sido encontrados en numerosas especies vegetales (Marschner, 1995). El nivel de toxicidad crítico de cada elemento está bajo control genético, y varía dentro y entre especies para cada elemento. Las interpretaciones fisiológicas de toxicidad de micronutrientes son limitadas, pero están más detalladas para los elementos como Mn, Cu, Zn, Mo, e Fe, que para elementos como B y Cl. La toxicidad interfiere con los procesos fisiológicos normales en los que están involucrados la utilización de los elementos. Tales sucesos van desde alteraciones en los niveles de auxinas (Mn, Cu) hasta alteraciones en la síntesis de proteínas (Mo, Fe, Zn) (Marschner, 1995). Algunos ejemplos concretos serían:

**Hierro:** Un nivel excesivo de éste que pueda conducir a toxicidad, es muy raro en condiciones naturales. No suele manifestarse más que en suelos muy ácidos, o con aplicaciones excesivas de sales solubles (Loué, 1988). Altas concentraciones de Fe en el medio de cultivo condujeron a una reducción en el peso fresco de las plantas y produjeron daños al 50% del cultivo de *Poa pratensis* L. cv. Touchdown (Lee et al., 1996).

El “bronceado del arroz” sintomatología de toxicidad férrica es un problema importante de la producción y el segundo factor más severo que limita el rendimiento del cultivo de arroz en suelos encharcados. El contenido tóxico crítico es superior a 500 mg kg<sup>-1</sup>, de peso seco foliar, pero es altamente dependiente del contenido en otros nutrientes (Yamauchi, 1989). La evolución de los síntomas se inician con pequeños puntos rojizos a marrones sobre la base de las hojas, que se propagan a todo el limbo y que pardea. Finalmente, las raíces de arroz tienen por otra parte la capacidad de eliminar el Fe que entra con el agua, pero esta facultad se ve alterada por diversos factores, entre los cuales está la deficiencia de K (Tanaka, 1973).

La toxicidad férrica también puede jugar un papel importante en cultivos de suelo y probablemente, es un proceso precoz del daño inducido por sequía en los tejidos fotosintéticos, causado por la catalización del Fe en la formación de radicales libres tóxicos de oxígeno en el cloroplasto (Price y Hendry, 1991)

**Manganeso:** En experimentos de Mn aplicado en exceso, Lee et al. (1996), no encontraron ningún síntoma de toxicidad, ni observaron ninguna reducción significativa en el peso seco o en la altura de las plantas de *Poa pratensis* L. Solamente una concentración 12 mM de Mn, condujo a una disminución en el peso fresco, en comparación con las plantas control.

Los síntomas de toxicidad de Mn son: la aparición de manchas marrones sobre las hojas maduras, menos claras en condiciones de alta intensidad de luz, en comparación con baja intensidad (Weissemeir y Horst, 1992) y puede conducir a una deformación de las hojas jóvenes, como ocurrió en plantas de judía (Horst y Marschner, 1978) y algodón (Foy et al., 1981). La toxicidad del Mn conduce a la aparición de manchas negruzcas distribuidas a lo largo de los tallos, peciolo y nervaduras principales, que corresponden a su acumulación (Juste, 1970); la toxicidad del Mn puede aparecer como clorosis y necrosis internerviales (Nable et al., 1988; Horiguchi et al., 1988b).

En ciertos cultivos (arroz, judía) se ha demostrado que el Si podría atenuar la toxicidad del Mn permitiendo una mejor distribución de este en las hojas. El Si permitiría de esta forma evitar la acumulación del micronutriente (Mengel y Kirby, 1982).

**Cobre:** El exceso de este en el suelo conlleva a efectos sobre el metabolismo vegetal son: la inhibición del crecimiento (Woolhouse, 1983), el estrés oxidativo (Van Assche and Clijsters, 1990; Woolhouse, 1983), daños a membranas, alteración de actividades enzimáticas (De Vos et al., 1992), inhibición de la fotosíntesis, etc. (Lidon et al., 1993). Los efectos de la toxicidad por el Cu son la inhibición rápida del desarrollo radicular y clorosis similar a la originada por deficiencia de Fe, probablemente como consecuencia de una deficiencia inducida de este elemento al reducirse la absorción de hierro por competencia y en cultivos

plantas superiores sensibles, causa varios efectos que dependen fuertemente, entre otras cosas, de la fase del crecimiento de planta en que fue aplicado el metal, y en el tiempo de su acción (Loué, 1988).

El exceso de Cu, aplicado durante las fases iniciales del crecimiento, inhibe fuertemente la expansión foliar e incrementa la cantidad de pigmentos por unidad de superficie (Maksymiec et al., 1994; 1995; Maksymiec y Baszynski 1996). La inhibición del crecimiento por tan sólo un día de tratamiento (Weckx y Clijsters, 1996). Después de una exposición, a lo largo del periodo vegetativo, la concentración de clorofila disminuye, asociada con la destrucción simultánea de la estructura interna del cloroplasto (Rousos et al., 1986, 1989, Baszynski et al., 1988), y una modificación considerable de la composición de proteínas lipídicas de la membrana tilacoidal (Lidon y Henriques, 1993; Maksymiec et al., 1994), dependiendo de la duración de la acción del Cu (Maksymiec et al., 1992). Las características comunes de la acción del exceso de Cu en la mayoría de las plantas es la disminución de la masa radicular (Casella et al., 1988; Rhoads et al., 1989, Lindo y Henriques, 1992; Rousos y Harrison, 1987). Los efectos tóxicos de este nutriente sobre el aparato fotosintético normalmente incluyen, la disminución de las actividades fotoquímicas (Sandman y Böger, 1980), daños de la estructura y composición de la membrana tilacoidal (Clijsters et al., 1991), y alteración en los niveles de pigmentos (Ouzounidou, 1996). Los tratamientos con exceso de Cu provocaron una reducción en la elongación radicular (Ciscato et al., 1997).

El exceso de Cu también puede inducir inhibición de la fotosíntesis a través de la limitación del metabolismo de carbono, como resultado de cambios morfológicos y bioquímicos en el tilacoide. El exceso de este tiene un fuerte efecto tóxico para plantas y animales. La necesidad de elucidar los mecanismos de la toxicidad del Cu no sólo para su uso en industria, sino también como fungicida, algicida o bactericida en agricultura, y como droga en medicina, abre un amplio campo actual de estudio (Maksymeic, 1997).

**Cinc:** Cuando el suministro de éste es excesivo puede inducirse toxicidad rápidamente en plantas no tolerantes. La inhibición de la elongación radicular es un parámetro muy sensible a esta toxicidad (Godbold et al., 1983; Ruano et al., 1988). A menudo, la toxicidad de

Zn conduce a clorosis foliar, y a reducciones en la altura y en el peso fresco y seco (Lee, 1996; Fontes y Cox, 1998). En soja, la toxicidad de Zn indujo la inhibición de la fotosíntesis. La inhibición de la actividad Ribulosa-bifosfato-carboxilasa se debe probablemente a la competencia con el Mg y que inhibiera la actividad del FS II por reemplazo del Mn en la membrana tilacoidal (Van Assche and Clijsters, 1986).

El nivel crítico de toxicidad en hojas es tan bajo como de 100  $\mu\text{g Zn g}^{-1}$  de peso seco (Ruano et al., 1988) y con niveles de 300  $\mu\text{g de Zn g}^{-1}$  de p.s., es lo más común. Incrementar el pH del suelo por encalado, es el procedimiento más eficaz para disminuir el contenido y paliar la toxicidad del Zn (White et al., 1979).

**Molibdeno:** El Molibdeno no suele presentar problemas de fitotoxicidad, ya que la concentración foliar del Mo puede alcanzar 200 mg/kg p.s., sin que las hojas muestre síntomas de toxicidad (Loué, 1988; Marschenr, 1995).

La toxicidad de Mo es muy rara, y los datos sobre las concentraciones tóxicas de Mo son extremadamente limitados. Las concentraciones tóxicas del Mo difieren según las especies. Las dicotiledóneas son generalmente menos tolerantes al exceso de Mo que las monocotiledóneas (Kluge, 1983). Algunas veces aparecen los síntomas de toxicidad en las hojas, sin afectar la producción (Loué, 1988). En pastos y forrajes, el exceso de Mo, interfiere con la absorción y utilización de Cu, y conlleva una deficiencia inducida de Cu en animales (Thomson et al., 1972). Altas concentraciones de Mo, no tóxicas, son ventajosas para la producción, pero en forrajes, son perjudiciales para los ruminantes, que son sensibles a altas concentraciones de Mo (Marschner, 1995).

Los síntomas más llamativos de la toxicidad de Mo son la clorosis: amarillo y amarillo-naranja, con algunos tintes parduscos que empiezan en las hojas jóvenes, (Bergmann, 1992). Los síntomas específicos de la toxicidad incluyen el color morado de plantas jóvenes y el retraso de la madurez en la coliflor (Vitosh et al, 1981); un color amarillo-naranja intenso en plantas de *Phaseolus vulgaris* (Gärtel, 1993), y un color amarillo dorado hasta bronce de las hojas es lo más general (Falke, 1983).

**Boro:** La toxicidad de Boro ocurre bajo dos condiciones: de forma natural por aguas de riego; o bien, accidentalmente, por la aplicación de elevadas cantidades de B para corregir deficiencias (Gupta y Gupta, 1998). La toxicidad de éste en regiones áridas y semiáridas se asocia frecuentemente con suelos salinos, pero a menudo ocurre con el uso de aguas de riego con alto contenido de B (Gupta y Gupta, 1998). Las altas concentraciones del B en el agua de riego conllevaría a una alta concentración del B, en suelos con poco drenaje (Gupta y Gupta, 1998).

La adición de materiales con alto contenido de B, como por ejemplo el compost, puede producir toxicidad de B (Gupta et al., 1973; Purves y MacKensie, 1973). En alfalfa (*Medicago sativa* L.), la producción se redujo significativamente con la aplicación de B en suelos limo-arenosos mientras que no se observó reducción de la producción en suelos limosos (Gestring y Soltanpour, 1987). Esta reducción de la producción se asoció con los altos niveles entre 800 y 900 mg kg<sup>-1</sup>.

Los síntomas típicos de la toxicidad del B son similares para muchas plantas. A causa del bajo transporte de éste, los síntomas aparecen generalmente en hojas jóvenes y son necrosis progresiva que empieza por un amarilleo de extremidades y de los bordes, que progresa entre los nervios laterales hacia la nervadura central y evoluciona con un oscurecimiento y posterior necrosis, y las hojas caen prematuramente (Shorrocks, 1974; Loue, 1988). Los niveles críticos de la toxicidad de B varían desde 10-50 µg g<sup>-1</sup>p.s. en tejidos vegetativos de cultivos sensibles como los cereales, a más de 200 µg g<sup>-1</sup> en especies tolerantes como la remolacha (*Beta vulgaris* L.), etc. (Gupta, 1993).

En ocasiones también se observan síntomas similares a los de deficiencia de B: ápices defoliados y yemas marchitas, exceso de ramificaciones de escaso vigor, frutos deformados y difíciles de conservar, etc. (Trocmé y Gras, 1972).

Para explicar la base molecular de la acción del B se han propuesto diferentes hipótesis. Entre éstas, se encuentran las relacionadas con los sistemas de extrusión de H<sup>+</sup> de las membranas celulares. Así, se ha propuesto la actuación del B directamente sobre la H<sup>+</sup>.

ATPasa, que podría ser la causa de la modificación del potencial de las membranas y de los transportadores iónicos acoplados a ellas (Belver et al., 1988).

**Cloro:** Las altas concentraciones de Cl en la planta se generan comúnmente por niveles altos de salinidad en el suelo. Los síntomas de su toxicidad son la quemadura del ápice y bordes de la hoja, amarilleamiento progresivo y caída éstas (Dominguez, 1997).

La toxicidad del Cl<sup>-</sup> puede provocar estrés, limitando el crecimiento y ocurre particularmente en regiones áridas y semiáridas. Una concentración media de ésta en la solución edáfica superior a 20 mM, puede provocar toxicidad en plantas sensibles, mientras que las plantas tolerantes pueden soportar concentraciones cinco ó 6 veces superiores sin reducción del crecimiento (Marschner, 1995). El incremento del Cl en la solución fertilizante, tuvo un efecto menor sobre el crecimiento de las plantas, mientras que muy altas concentraciones desarrollaban síntomas leves de toxicidad (Lee et al., 1996).

### 1.3.2.- Toxicidad de metales pesados.

**Aluminio:** La producción de plantas de maíz se ve limitada fuertemente por la toxicidad de Al en suelos ácidos. En estos suelos, la producción puede verse incrementada por la aplicación de cal. Los efecto del exceso de Al son la inhibición de la elongación radicular y la inducción de la formación de calosa (Wissemeier et al., 1987; Llungany et al., 1995). La inhibición de la elongación radicular se puede detectar en menos de 30 minutos de exposición al metalo (Zhang et al., 1994; Wissemeir y Horst, 1995).

El Al se une a vesículas de fosfolípidos e induce una fase de separación en las membranas (Deleers et al., 1985; Shi y Haug, 1988; Akeson et al., 1989). En sistemas biológicos, el tratamiento con Al, disminuye la fluidez de los lípidos de las membranas en *Thomoplasma acidophilum* (Vierstra y Haug, 1978). Zel et al. (1993), sugirieron que el Al disminuía la permeabilidad de las membranas plasmáticas en hongos resistentes a él.

Bajo condiciones de acidez el Al existe como catión polivalente que se liga fuertemente a las cargas negativas de la pared celular de las raíces (Rengel y Robinson, 1989;



Delhaize et al., 1993; Hodson y Sangster, 1993; Marienfeld y Stelzer, 1993; Marienfeld et al., 1995). Su toxicidad supone frecuentemente una limitación importante para el crecimiento de las plantas sobre suelos ácidos (Taylor, 1988). El primer efecto aparece en las raíces (Pavan et al., 1982; Horst, 1987; Jan y Petterson, 1989; Simon et al., 1994), la causa principal de su toxicidad es una gran reducción del crecimiento radicular y del peso seco de la planta (Simon et al., 1994).

Plantas crecidas sobre sustratos con niveles tóxicos de Al muestran trastornos en su estado nutricional (Matsumoto, 1991), con una reducción de la concentración de elementos como, Ca, Mg, K, y P (Clark, 1977; Pavan y Bingham, 1982; Wheeler et al., 1989; Keltjens y Tan, 1993). Así mismo, éste interfiere con la absorción, transporte, y utilización de algunos de elementos esenciales (Foy, 1988; Cambraira et al., 1990). El incremento en la concentración de Al en la solución nutritiva provocó la disminución de la concentración de Ca, Mg, K y Mn tanto en la parte aérea como radicular, y la reducción de Fe y Zn en la parte aérea (Pintro et al., 1996). También se observó una disminución de la concentración de Fe, Mn, y Zn debida a la toxicidad del Al (Clark, 1977; Pavan y Bingham 1982), aunque, Wheeler et al., (1992), sugirió un incremento en la concentración de Cu debido a la presencia del Al.

**Níquel:** A niveles suficientemente altos, puede ser tóxico para las plantas, interfiriendo con la actividad fotosintética y respiratoria (Yang et al., 1996), con la nutrición mineral (Barceló y Poschenreider, 1990), y con diferentes actividades enzimáticas (Krogmeier et al., 1991; Pandolfini et al., 1992), así como con la función de las membranas (Pandolfini et al., 1996), y la concentración de clorofilas (Brune et al., 1995).

Los síntomas típicos de la toxicidad del Ni son la clorosis seguida de la necrosis foliar y la distorsión y reducción del crecimiento de la parte aérea y radicular (Pandolfini et al., 1992; Moya et al., 1993; Yang et al., 1996). Estos síntomas a menudo resultan de los trastornos por desequilibrios nutricionales, desórdenes en el metabolismo, y en las leguminosas, por inhibición en la fijación del N (Bazzaz et al., 1974; Vesper y Waidensaul, 1978). Otra consecuencia de su toxicidad en plantas de maíz fue la inhibición del transporte de carbohidratos desde las hojas hacia las raíces, lo que se explicó por una acumulación de

almidón en las hojas, que podría deberse a un incremento en la actividad fotosintética (L'huiller et al., 1996).

**Cobalto:** Parece que la clorosis generada por su toxicidad, como en el caso del Fe afecta el contenido en pigmentos, la fotosíntesis, los cloroplastos y las células, de manera similar (Terry, 1981).

El incremento de la concentración de Co en la solución nutritiva disminuye de manera importante la producción en el tomate (Moreno-Caselles et al., 1997). Resultados similares se encontraron en arroz, algodón, y *Hordeum vulgare* (Davis et al., 1978; Kim et al., 1978; Rehab y Wallace, 1978). La concentración de pigmentos clorofílicos disminuye con el incremento de la concentración de Co en la solución nutritiva y con el tiempo. Su exceso es muy raro en condiciones naturales, y se traduce en clorosis y necrosis, seguidas de marchitez de la planta. El Co puede ser quelado, como el Fe, Mn por ejemplo, y es capaz de desplazar a estos iones, de disminuir la absorción si hay competencia a nivel de quelación, o de alterar su forma de acción si son desplazados por el Co de los lugares de acción fisiológica (Mengel y Kirkby, 1982).

**Cadmio:** Es uno de los metales pesados más tóxicos y contaminantes del medio ambiente (Stroinski, 1999). Aunque este elemento no es esencial para las plantas, puede absorberse fácilmente por las raíces y ser transportado por vía xilémica a los órganos vegetativos y reproductivos, afectando negativamente a los cultivos (Cox, 1986). Numerosos estudios demostraron que Cd se transporta fácilmente dentro de las plantas, en comparación con otros metales pesados (Pais y Jones, 1997). Estudios en maíz crecido sobre suelos tratados con lodos contaminados, mostraban un incremento en la concentración de Cd (García et al., 1979), en cantidades más altas que las de Pb o Ni (Sadiq, 1985). Altas concentraciones de Cd, impiden la absorción y/o transporte de Fe, Mn, y Zn en las raíces y del Mn en el fruto (Moral et al., 1994).

El Cd está presente de forma natural en cantidades variables en el suelo y muchas plantas pueden acumularlo a niveles relativamente altos sin efectos adversos sobre su

crecimiento (Kuboi et al., 1986). Su acumulación en las plantas puede ser perjudicial para la salud humana (Mortvedt, 1996). También puede acumularse en cantidades no tóxicas para las plantas, pero perjudiciales para animales y seres humanos (Pais y Jones, 1997). Dudka et al., (1994) mostraron que la concentración de Cd en la parte vegetativa de plantas de trigo (25 veces superior que los niveles de plantas control) no fue perjudicial. La aplicación de altas concentraciones de Cd ( $50 \mu\text{g g}^{-1}$ ), no causó ninguna disminución en la producción de trigo (Dudka et al., 1994), mientras que los granos resultantes, que contenían  $4 \mu\text{g Cd g}^{-1}$  p.s., si se utilizan como alimento, pueden causar toxicidad en el ganado. La aplicación del carbonato-cálcico a los suelos puede, disminuir la disponibilidad de Cd y puede ser de gran importancia para la reducción de la toxicidad de este (Gupta y Gupta, 1998).

La disponibilidad del Cd y su posible toxicidad para las plantas está condicionada por las características y propiedades de los suelos (pH, potencial redox, etc.) así como por el tipo de especie vegetal, cultivar, parte de la planta y edad de la misma (Adriano, 1986; Alloway, 1995). Además de estos factores también hay que considerar la forma en la que este metal está en el sistema suelo-planta (Nogales et al., 1993).

El síntoma más aparente del efecto de la toxicidad de Cd es la clorosis foliar, acompañado por sus efectos negativos sobre la actividad fotosintética, fotosíntesis neta, actividad de FS II, y daños graves en la ultraestructura del cloroplasto (Malik et al., 1992).

**Plomo:** Es uno de los metales pesados contaminantes más abundantes en el medio ambiente, y se absorbe principalmente por la raíz (Foy et al., 1978; Vejtechova y Leblová, 1991; Fodor et al., 1996). El incremento de su concentración en la solución nutritiva redujo el crecimiento radicular y la concentración de otros elementos minerales (Godbold y Kettner, 1991, Fodor et al., 1996).

Numerosas investigaciones demostraron que los efectos tóxicos de Pb sobre los procesos metabólicos de las plantas se producen en la fotosíntesis (Fodor et al., 1996), en la transpiración (Poskuta et al., 1988), en la síntesis de ADN (Gabara et al., 1992), en la mitosis

y en la división celular (Liu et al., 1994), y en la germinación (Wierzbicka y Obidzinska, 1998)

**Cromo:** En su estado oxidado puede ser tóxico para las plantas como Cr III y Cr II (Barlett y James, 1988), mientras que la forma Cr III se encuentra normalmente en las plantas y es esencial para la nutrición humana (Huffman y Allaway, 1973). Pueden acumularse niveles tóxicos de Cr en suelos mejorados con lodos de aguas residuales con altos contenidos en el o con los residuos industriales ricos en taninos (Srivastva y Gupta, 1996). En la mayoría de los suelos, los valores de Cr pueden oscilar entre 20 y 220 mg Kg<sup>-1</sup> y está presente en pequeñas cantidades en podzoles, y en niveles altos en fluvisoles y chernozems (Kabata-Pendias et al., 1992)

Los síntomas de toxicidad de Cr incluyen la restricción en el crecimiento radical y de la parte aérea así como la clorosis foliar (Pratt, 1966). En monocotiledóneas, las hojas se vuelven más estrechas y parecen rojo-parduscas, con manchas necróticas en avena, y verde-moradas en maíz (*Zea mays* L.). Su toxicidad produce clorosis debido a la disminución de los pigmentos clorofílicos y carotenos (Barceló et al., 1986).

**Selenio:** La acumulación de este en las plantas depende del pH del suelo y del potencial redox, así como de la capacidad de cada especie para absorberlo (Kopsell y Randle, 1999). Los efectos tóxicos de Se sobre las plantas resultan principalmente de su interferencia con el metabolismo azufrado (Mikkelsen, 1989). Con frecuencia, una clorosis leve, la disminución en la síntesis proteica y en la producción de materia seca, se asocian con la toxicidad de Se (Mengel y Kirkby, 1987). Se han realizado estudios sobre los efectos tóxicos de este sobre las plantas y animales. Aún no están bien determinados los contenidos tóxicos para las plantas, pero si han sido descritos los síntomas de su toxicidad en diferentes plantas (Ganje, 1966): se retrasa el crecimiento, talla reducida, el síntoma más típico en cereales es clorosis “en color de nieve” en los bordes de las hojas, e igualmente, es característico un “olor a ajo” en los forrajes de las regiones seleníferas.

Las causas de toxicidad de Se para las plantas son muy conocidas, y pueden deberse a los compuestos de Se, que interfieren por sustitución con el metabolismo de S. Puede existir competencia a nivel de absorción entre selenato y sulfato, por los mismos lugares de transporte. Por otra parte, se ha observado en ciertas especies, la presencia de Se en aminoácidos análogos a los del azufre: selenometionina y selenocisteína (Mengel y Kirby, 1987). Algunas plantas metilan Seleno-aminoácidos para prevenir su incorporación en proteínas, evitando la fitotoxicidad inducida por Se (Brown y Shrift, 1982).

**Estroncio:** Este inhibe de forma considerable la expansión foliar, el crecimiento, y estimula la senescencia foliar, que viene acompañada por la degradación de clorofilas, y particularmente en las hojas jóvenes (Kim y Heinrich, 1997). Los cambios en los niveles de clorofila y actividad peroxidasa, inducidos por él pueden ser una indicación de su toxicidad (Matile, 1980; Martinoia et al., 1982). La exposición de plantas a largos periodos y a elevados niveles de Sr puede inducir toxicidad en los procesos fisiológicos, como la activación de las peroxidasas y la oxidación de ácido indol acético (Kim, 1994; Kim y Heinrich, 1997). El Sr puede adherirse a la superficie de la pared celular, induciendo cambios en la extensión de la pared causando arrugas en las plantas debido a su toxicidad (Kim, 1994), y la expansión célula fue inhibida (Burström, 1983).

**Arsénico:** La fitotoxicidad de As éste ve afectada por la forma en que exista en el suelo. El Arsénito ( $\text{AsO}_2^-$ ) es más fitotóxico que el arseniato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ) y ambos, son mucho más tóxicos que los arsenicales orgánicos cuando están presentes en el suelo (Lepp, 1981).

El Arsénito sódico se clasifica como tóxico, según el Tercer Artículo de Regulación Técnica Sanitaria para la producción, venta, y uso de plaguicidas aprobadas por LA ORDENANZA REAL 3349/1983 en la que se definen los productos tóxicos, como aquellos que contienen compuestos que implican riesgos extremadamente graves, continuos o crónicos, para la salud humana, incluso la muerte por inhalación, por ingestión o penetración cutánea (Linan, 1994).

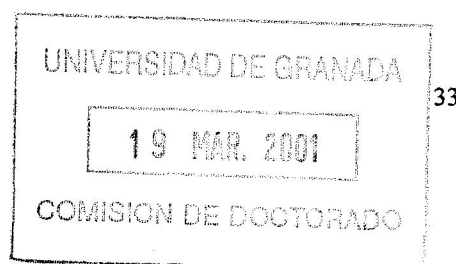
El Arsénito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) se usa ampliamente como herbicida y esterilizante de suelos no selectivo y como pesticida en viñas (Carbonell-Barrachina, 1992, 1995).

**Bario:** Su exceso causa lesiones de color rojo-oscuras cerca de las nervaduras y de color brillante, próximos a los márgenes foliares. Los síntomas son más severos en la base foliar (Clark, 1994).

Tal y como viene detallado por Pais y Jones (1997), el Ba está presente en altas concentraciones en la corteza terrestre, tiene solamente un estado de oxidación que es +2. Es fisiológicamente inactivo en plantas bajo circunstancias normales, pero su sales solubles son muy tóxicas para los animales y humanos (Pais y Jones). En el suelo la actividad pirofosfatasa-inorgánica puede verse incrementada con dosis crecientes desde de 30 a 50  $\mu\text{M}$   $\text{Ba}^{2+}$ , mientras que el Fe y el Cu disminuyeron dicha actividad. Con el incremento del pH del suelo, la disponibilidad del Ba incrementa; por el aumento de la concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  debido a lluvias ácidas, etc. este absorción disminuye. En los suelos con alto contenido de Ca, Mg y S, la disponibilidad de Ba disminuye (Pais y Jones). Las plantas enriquecidas con Ba normalmente no son tóxicas para los animales porque su concentración no es suficientemente alta. En los procesos fisiológicos, este es un competidor con el Ca y Sr. Una concentración de 200  $\text{mg kg}^{-1}$  es considerada moderadamente tóxica y las superiores a 500  $\text{mg kg}^{-1}$  si son tóxicas. Las algas pardas pueden acumular grandes cantidades de Ba (Pais y Jones, 1997).

**Plata:** Este metal es poco tóxico para las plantas crecidas en soluciones nutritivas; 0.5  $\text{mg/L}$  de Ag en solución resultan en concentración crítica en las plantas. La concentración de Ag en tejidos vegetales es normalmente menor de 0.01  $\text{mg/kg}$ , aunque en algunos suelos pueden alcanzar 0.5  $\text{mg/kg}$  en planta. Puede considerarse como unos de los metales pesados más tóxicos para los microorganismos (Pais y Jones, 1997).

**Antimonio:** Aunque el Sb existe principalmente en formas catiónicas, tiene también formas aniónicas, como antimónidos y antimonatos. Se conoce poco acerca de Sb y sus efectos aunque se considera como moderadamente tóxico para las plantas. Estas pueden acumular concentraciones de Sb mayores que las encontradas en el medio de crecimiento: desde 7 hasta 50  $\text{mg kg}^{-1}$  se encontraron en árboles y arbustos crecidos en suelos con alto contenido. Las concentraciones de Sb en hojas varía desde 10 hasta 27  $\mu\text{g/kg}$  (Pais y Jones, 1997).



**Silicio:** Según la literatura existente, las altas concentraciones de este nutriente no tienen un efecto perjudicial sobre los cultivos, sino al contrario, los altos niveles de Si pueden ser beneficiosos para los cultivos ya que promueven el crecimiento de las plantas (Epstein, 1999). Su contenido en las plantas puede variar entre un 0.1 y un 10% de peso seco (Epstein, 1994) en comparación con otros macroelementos como Ca (0.1-0.6%), o el S (0.1-1.5%), mostrando que el Si se puede encontrar en las plantas a concentraciones equivalentes a macroelementos, y puede superar los niveles máximos de estos. En algunos casos, la estimulación del crecimiento se debe a la acción protectora del Si que permite a las plantas una defensa contra los diferentes estreses bióticos y abióticos (Epstein, 1999). El Si interviene en los mecanismos de defensa, permitiendo a las plantas la protección contra los agentes patógenos (Bélanger et al., 1995). Está probada la eficacia del Si en la protección de cultivos de invernadero contra enfermedades provocadas por bacterias y hongos, induciendo resistencia a enfermedades (Bélanger y Benyagoub, 1997).

El Si confiere a las plantas una protección contra la toxicidad del Mn, ya que la disminución de la producción causada por la toxicidad del Metal, puede ser aliviado por la adición de Si, y en angiospermas se encontró una relación negativa entre B y Si, y positiva entre Ca y B (Epstein, 1999). La interacción entre Si y otros elementos, reduce la actividad de los metales tóxicos en el medio (Epstein, 1998). La concentración de Si en la solución del suelo es del orden de 0.1-0.6 mM (Epstein, 1994), y puede cambiar ligeramente según los valores del pH. Cuando se usan grandes cantidades de este nutriente en el medio de cultivo, se produce su polimerización y precipitación (Epstein, 1999). En Experimentos realizados con plantas de maíz (*Zea mays*) se vio que el Si permite una protección contra la inhibición de la elongación radicular inducida por la toxicidad del Al, los autores concluyeron que la formación del complejo Al-Si es responsable de dicha protección (Ma et al., 1997).

## 1.4.- Fitorremediación.

### 1.4.1.- Definición y tipos de fitorremediación.

La *fitorremediación* se define como el uso de las plantas para eliminar contaminantes del medio ambiente o para hacerlos inofensivos (Cunningham y Berti, 1993; Rasken et al., 1994). Se han realizado varios trabajos de revisión sobre este, resumiendo algunos aspectos importantes de esta técnica novedosa con base vegetal (Cunningham et al., 1995; 1996; Salt et al., 1995; Cunningham y Ow, 1996; Chaney et al., 1997; Raskin et al., 1997).

La idea de base de que las plantas se pueden usar para la remediación ambiental es muy antigua y no puede explicarse desde una perspectiva particular. Sin embargo una serie de descubrimientos científicos fascinantes en combinación con una aproximación interdisciplinaria en las investigaciones han permitido el desarrollo de esta "idea" hacia una técnica prometedora, económica y ecológicamente hablando.

La *fitorremediación* se puede aplicar tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos, presentes en substratos sólidos (como el suelo), líquidos (como el agua), y el aire. La *fitorremediación* se divide actualmente en las siguientes áreas:

- ❖ **Fitoextracción:** el uso de plantas acumuladoras de contaminantes para eliminar metales o compuestos orgánicos del suelo acumulándolos en sus partes cosechables.
- ❖ **Fitodegradación:** es el empleo de las plantas y sus microorganismos asociados, para degradar contaminantes orgánicos.
- ❖ **Rizofiltración:** esta utilización de las raíces para absorber y adsorber contaminantes, principalmente metales, desde el agua y lodos (lodos residuales).
- ❖ **Fitoestabilización:** consiste en el uso de las plantas para reducir la biodisponibilidad de contaminantes en el medio ambiente.



- ❖ **Fitovolatilización:** el uso de las plantas para volatilizar contaminantes.
  
- ❖ **Fitocondensación:** se trata de la eliminación de contaminantes del aire.

La mayor parte de la presente revisión se va a centrar en la *fitorremediación* de metales contaminantes en el suelo, particularmente en el área de la *fitoextracción* de metales, que es el área que ha sufrido el mayor avance tanto científico como técnico en los últimos años. Esto puede explicarse, al menos en parte, por la facilidad relativa para detectar los metales en diversos materiales biológicos (Salt et al., 1998).

La *fitorremediación* de metales se está desarrollando como solución efectiva y económicamente viable para miles de lugares contaminados de los EE.UU. y otros países desarrollados y su desarrollo está dirigido por el prohibitivo coste de los métodos de remediación de suelos disponibles, que implican la retirada y deposición posterior del suelo contaminado a un precio que ronda el millón de dólares por acre (Salt et al., 1998).

Los metales de mayor importancia como contaminantes medio ambientales y algunos de sus límites reguladores se presenta en la Tabla 1.

Distintos autores han colocado los metales en cada categoría según su importancia como contaminantes medio ambientales en los EE.UU. (Tabla 1.1). Esta revisión se enfoca en las técnicas de *fitorremediación* para eliminar toxinas del medio ambiente. No entraremos a discutir la rizofiltración, que ya ha sido ampliamente revisada (Raskin et al., 1997; Salt y Baker, 2000).

**Tabla 1.2. Rangos de concentración encontrados en la actualidad y límites reguladores para contaminantes metálicos y radioactivos en orden de importancia relativa**

Elementos	Intervalo de concentración	Límite regulador
<i>Metales</i>	( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	( $\text{mg kg}^{-1}$ ) <sup>b</sup>
Pb	1000-6,900,000	600
Cd	100-345,000	100
As	100-102,000	20
Cr	5,1-3,950,000	100
Hg	0,1-1,800,000	270
Cu	30-550,000	600
Zn	150-5,000,000	1500
<i>Radiomucleídos</i>	Unidades	pCi g <sup>-1</sup>
U	0,2-16,000 <sup>c</sup>	-
	0,06-18,700 <sup>d</sup>	250 <sup>f</sup>
Sr	0,03-540,000 <sup>e</sup>	-
Cs	0,02-46,900 <sup>e</sup>	-
Pu	0,00011-3,500,000 <sup>e</sup>	-

<sup>a</sup>Riley et al. (1992); <sup>b</sup> Salt et al. (1998); <sup>c</sup> Microgramo por gramo ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ); <sup>d</sup> Picocuries por gramo (pCi g<sup>-1</sup>); <sup>e</sup> Picocuries por kilogramo (pCi kg<sup>-1</sup>); <sup>f</sup> Stern et al., 1996

### 1.4.2.- Fitoextracción de metales.

Una revisión de los trabajos sobre *fitorremediación* revela que, actualmente, se desarrollan dos estrategias básicas de fitoextracción: *fitoextracción facilitada por quelatos*, que denominaremos "*fitoextracción inducida*" (Figura 1.1); y *la fitoextracción a largo plazo* o "*fitoextracción continua*".

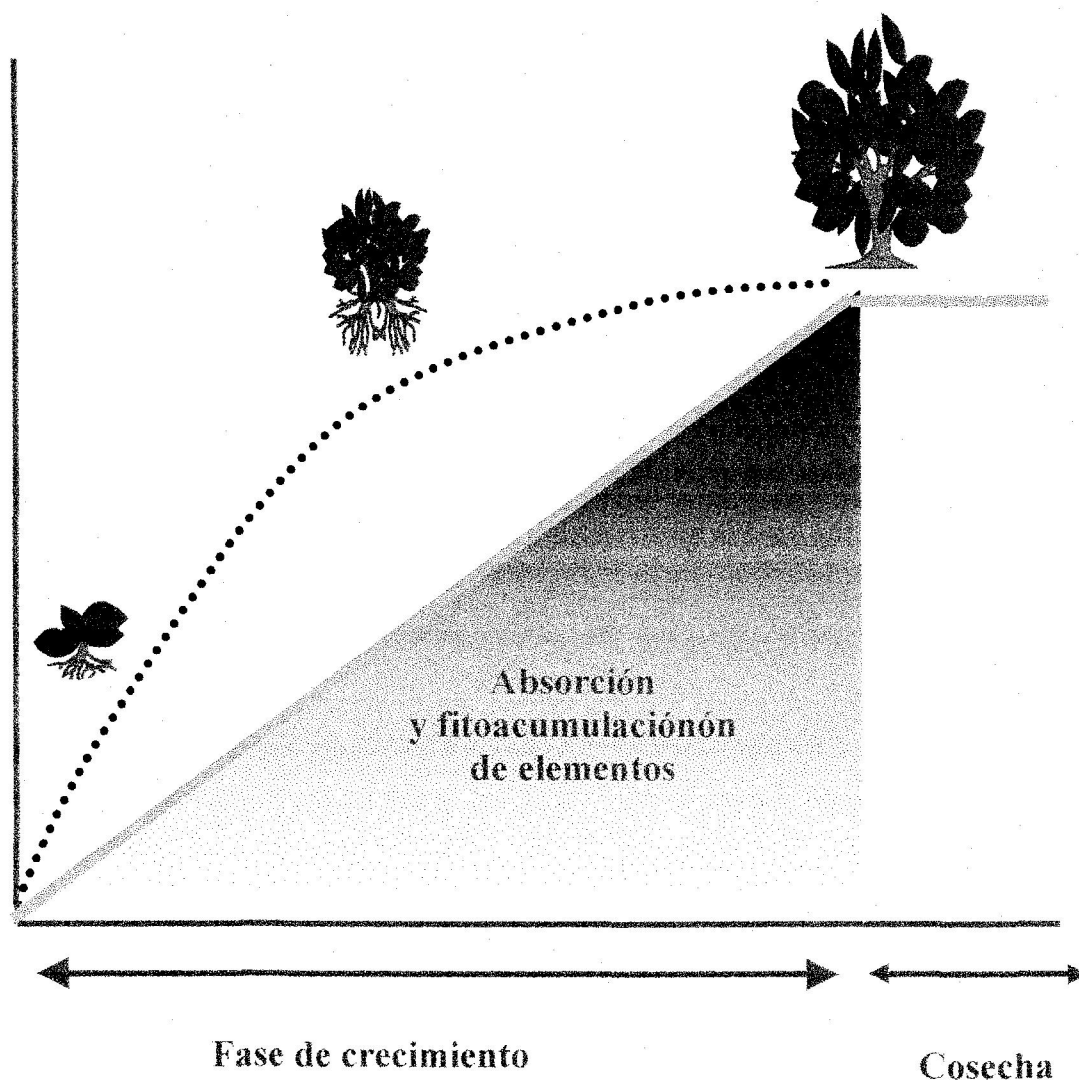


Figura 1.3.- Representación esquemática de la fitoextracción continua. La línea continua representa la concentración de elemento en la biomasa, la línea de puntos representa la biomasa en parte aérea (Salt et al., 1998).

De los dos procesos, la *fitoextracción inducida* es la más desarrollada y se está utilizando actualmente de forma comercial. La *fitoextracción* continuada también se estudia para la eliminación o extracción de metales como cinc, cadmio, níquel y metales oxianiónicos como selenio, arsénico y cromo. Se han llevado a cabo experimentos de campo utilizando ambas estrategias de *fitoextracción*, resultados aunque favorables, sugieren la necesidad de un mayor desarrollo de esta técnica (Tabla 1.2).

Varias investigaciones (Bingham et al., 1979; Adriano et al., 1982; Erikson, 1989), sugirieron que el incremento en el pH del suelo por encalado, o por enmiendas con cenizas, ayudó a reducir la absorción de muchos metales pesados, pues el incremento en el pH de la solución del suelo favoreció, la solubilidad de la mayoría complejos de metales del suelo, aumentando su biodisponibilidad.

Table 2. 1. Ejemplos de experimentos de campo para la fitorremediación de metales

Metal	Planta	Localización	Método <sup>a</sup>	Comentarios	Ref
Pb	<i>Brassica juncea</i>	Trenton, Nueva Jersey, USA	PE-CA	Absorción favorecida por EDTA en un cultivo resultó en una reducción del 28% del área contaminada con Pb	
Cd Zn	<i>Thlaspi caerulescens</i> <i>Silene vulgaris</i>	Beltsville, Md.	PE-C	Fitoextracción de suelos con lodos de aguas residuales. Acumulación de Cd fue similar en tres especies. La acumulación de Zn en <i>T. caerulescens</i> fue 10 veces mayor que en las otras plantas	Brown et al., 1995
Zn Cd Ni Cu Pb Cr	<i>Brassica oleracea</i> <i>Raphanus sativus</i> <i>Thlaspi caerulescens</i> <i>Alyssum lesbiacum</i> <i>Alyssum murale</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	Rothamstead, U.K.	PE-C	Suelo enmendado con lodos residuales	Baker et al., 1991
Se B	<i>Brassica juncea</i> <i>Festuca arundinacea</i> <i>Hibiscus cannibus</i> <i>Lotus corniculatus</i>	Los Baños, Calif.	PE-C PV	El B soluble en agua se redujo entre 24-52% y el Se total se redujo entre 43-48% para todas las especies	Bañuelos et al., 1993
U	<i>Helianthus annuus</i>	Asthabula, Ohio	RF	Eliminación de U de aguas subterráneas <sup>b</sup>	

<sup>a</sup> Técnica de fitorremediación: PE, fitoextracción; PV, fitovolatilización; RF, rizofiltración; CA, fitoextracción inducida; C, fitoextracción continua.

<sup>b</sup>Phytotech Inc., comunicación personal.

#### 1.4.2.1.- Fitoextracción inducida.

El concepto de la *fitoextracción inducida*. No existen informaciones fiables de plantas capaces de acumular de forma natural la mayoría de los metales pesados más importantes y tóxicos para el medio ambiente, como el Cd, As, y elementos radioactivos. Por ejemplo, las plantas desarrolladas sobre suelos o en soluciones con altos niveles de Pb, contienen solamente un 0.01-0.06% de este metal en biomasa seca de su parte aérea (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Huang et al., 1997), niveles muy por debajo de los requeridos para una *fitoextracción* eficiente. Estudios antiguos de Jørgensen (1993), mostraron que la aplicación de quelatos sintéticos de metales, como el ácido etilen-diamino-tetraacético (EDTA) a suelos contaminados aumentaba la acumulación de Pb por las plantas. Huang et al., (1997) y Blaylock et al. (1997), lograron una acumulación rápida de Pb en la parte aérea mayor del 1% de peso seco. Estos descubrimientos abrieron el camino para un uso eficiente de la *fitorremediación* de metales tóxicos, para definir las estrategias para el desarrollo de la *fitoextracción* de otros metales tóxicos usando los quelatos apropiados.

La cantidad total de metales retirados o eliminados de un lugar, es el producto de la concentración de dicho metal en la parte recolectada de la planta por la biomasa cosechada (Salt et al., 1998; Meagher, 2000). La observación de cultivos con una alta producción de biomasa, incluidos *Brassicáceas*, maíz y girasol, pueden ser inducidos a acumular grandes concentraciones de Pb (Bockers et al., 1994; Huang y Cunningham, 1996; Huang et al., 1997), esto significa otro progreso en el desarrollo de la *fitoextracción inducida*.

El concepto de *fitoextracción inducida* se aplica también para otros metales además del Pb (Bockers et al., 1994). Éstos autores, mostraron que la acumulación simultánea de Pb, Cd, Cu, Ni, y Zn en plantas de especie *Brassicáceas* ocurrió tras la aplicación de EDTA al suelo contaminado con varios metales pesados. La eficiencia en la acumulación de metales en dichos experimentos, se estaba directamente relacionado con la afinidad de los quelatos aplicados para el metal. Esto sugiere que para *fitoextracción inducida* eficiente, los quelatos tienen que tener una alta afinidad por el metal en cuestión; como por ejemplo, el EDTA para el Pb, EGTA (ácido etilenglicol tetraacético) para el Cd (Bockers et al., 1994), y posiblemente citrato para el uranio (Salt et al., 1998).

Basándose en la información anterior, se puede diseñar un protocolo hipotético para la *fitoextracción inducida* de un lugar contaminado.

- La evaluación del lugar y la determinación de la combinación quelato/cultivo más adecuada.
- La preparación del lugar, y se lleva a cabo la plantación y posterior cuidado del cultivo.
- Una vez alcanzada una producción óptima de biomasa, se aplica el quelato apropiado.
- Después de un periodo determinado de acumulación de metales (días o semanas), se cosecha el cultivo.

Dependiendo de los cultivos y las estaciones, el lugar puede ser revegetado para una nueva *fitoextracción*. Las estimaciones sugieren que las plantas pueden extraer entre 180 y 530 kg ha<sup>-1</sup> de Pb por año (Bocker et al., 1994), remediando lugares contaminados con más de 2500 mg kg<sup>-1</sup> de Pb en un periodo no superior a 10 años (Huang y Cunningham, 1996). A continuación de la cosecha, el peso y volumen de material contaminado puede reducirse aún más por incineración o por compostaje. Los residuos vegetales enriquecidos con metales suponen un material peligroso que si es económicamente posible se pueden emplear para la recuperación de dichos metales en "fitominería".

**Desarrollo de fitoextracción inducida:** El descubrimiento de la absorción de metales facilitada por quelatos en las plantas es muy reciente, y consiste en dos procesos básicos: liberación de los metales no disponibles en la solución del suelo, combinada con el transporte de dichos metales a la parte cosechable del vegetal. El papel de los quelatos en el aumento de la concentración de metales solubles en la solución del suelo puede explicarse por la utilización equilibrios químicos bien establecidos. Sin embargo, los mecanismos involucrados en la quelación de metales, que inducen su absorción y transporte a la planta, aún no están bien comprendidos (Salt et al., 1998; 2000).

Una vez se ha aplicado EDTA, la acumulación de Pb en la parte aérea se correlaciona con la acumulación de EDTA (Salt et al., 2000). Así, casi con total seguridad probablemente el Pb se transporta dentro de la planta como complejo Pb-EDTA. La presencia de altos niveles de EDTA en los tejidos vegetales debe aumentar la

concentración de Pb soluble dentro de la planta por la formación de complejos Pb-EDTA solubles, permitiendo su movimiento desde las raíces hacia la parte aérea, donde el Pb probablemente se acumula como Pb-EDTA.

Claramente, el transporte de complejos metal-quelato dentro de la planta juega un papel importante en la acumulación de metales en plantas facilita por quelatos. ¿Cual es el mecanismo implicado en el transporte de los complejos metal-quelatos en plantas?. Un buen lugar para empezar a buscar la respuesta a esta pregunta es la literatura de nutrición mineral. En los años 50, se comenzó a introducir el quelato férrico como herramienta para corregir la deficiencia de Fe en las plantas. Desde entonces, se debaten los mecanismos por los cuales las raíces usan el hierro desde quelatos estables de  $Fe^{3+}$ . Parece que las raíces de las dicotiledóneas adquieren el hierro desde complejos de quelatos de  $Fe^{3+}$ , como  $Fe^{2+}$ , después de la ruptura de los quelatos por la actividad de la  $Fe^{3+}$ -quelato-reductasa radical (Chaney et al., 1972; Schmidt, 1999), o como complejo intacto de quelato de  $Fe^{3+}$  (Hill-Cottingham y Lloyd-Jones, 1965; Römheld y Marschner, 1981; Kochian, 1991). Los mecanismos de absorción dependen del estado nutricional del Fe en las plantas, con absorción predominante de  $Fe^{2+}$  en plantas deficientes de hierro (Chaney et al., 1972). Así, la alta estabilidad del complejo Pb-EDTA, que no se rompe por la  $Fe^{3+}$ -quelato-reductasa radical, puede ser absorbido de la misma manera que los quelatos de  $Fe^{3+}$ . Sin embargo, la "inducción" óptima de la absorción de metales se produce con concentración de quelato de al menos dos órdenes de magnitud más altas que las que se usan en soluciones hidropónicas (Blaylock et al., 1997). ¿Es diferente el mecanismo de absorción de quelatos a estas elevadas concentraciones? Un trabajo interesante publicado por Jeffreys y Wallace (1968) mostró que existe un umbral o límite de concentración de quelato por encima del cual la acumulación de quelato de Fe en la parte aérea es inducida, y por debajo del cual, sólo se acumulan niveles bajos de dicho quelato. Este informe precoz detalla la primera observación de la acumulación de metales facilitada por quelatos hace casi 30 años y sugiere, que hay por lo menos, dos mecanismos involucrados en la absorción de quelatos de metales, funcionado a bajas y altas concentraciones de quelato. La inducción de la absorción de quelatos de metal se correlaciona con estreses vegetales severos y de forma terminal la muerte del vegetal; no obstante no está claro si el estrés es necesario para la inducción, o simplemente refleja la acumulación de altas



concentraciones de quelatos sintéticos en la planta. Más recientemente la naturaleza bifásica de esta absorción de quelatos se confirmó por la medida directa del movimiento y distribución de EDTA marcado con  $^{14}\text{C}$  y de EDTA-Pb (Salt et al. 1998).

El transporte de metales facilitado con quelatos hacia la parte aérea parece que se produce en el xilema (Huang et al., 1997) a través de la corriente de transpiración (Blaylock et al., 1997). Los metales parece que se transportan hacia la parte aérea como complejos metal-quelato, cuando el agua se evapora, permanece el complejo metal-quelato y cuando se evapora el agua el complejo metal-quelato se queda. De esta forma, tras la inducción de la absorción, asistida por quelatos, la planta conduce el metal quelado desde la solución del suelo hasta las hojas. Esta operación depende de la altas superficies y áreas del sistema radical y de una eficiente capilaridad de transporte dentro de la planta. Aunque esto podría ser posible para diseñar y construir un sistema similar usando conocimientos de ingeniería, la naturaleza proporciona un técnica más barata y evolutivamente perfeccionada.

#### 1.4.2.2.- Fitoextracción continua.

Una alternativa similar a la *fitoextracción inducida* es la *fitoextracción continua* que emplea los procesos fisiológicos especializados que permiten a las plantas acumular metales a lo largo de su ciclo completo de desarrollo. Este tipo de absorción de metales se lleva a cabo por plantas *hiperacumuladoras* que crecen en suelos ricos en metales pesados (Baker y Brooks, 1989). Estas plantas son capaces de acumular más de un 1% en biomasa seca de parte aérea de metales como Zn, Ni, Mn, o, Se, de forma natural. La existencia de este fenómeno de *hiperacumulación* inspiró a Chaney, en 1983, para formular el concepto de *fitoextracción* (Chaney en 1983). A diferencia de la absorción inducida, la *fitoextracción continua* se basa en las capacidades fisiológicas y genéticas de plantas especializadas en la acumulación, transporte y resistencia a altas cantidades de metales. La mayor desventaja de la utilización de hiperacumuladoras naturales de metales para *fitoextracción continua* es su relativamente baja biomasa, baja tasa de crecimiento, y la no existencia de hiperacumuladores de los contaminantes metálicos más importantes del medio ambiente, como Pb, Cd, As, y U. Sin embargo, la comprensión de los mecanismos de la hiperacumulación puede ayudar al desarrollo de plantas superiores para

fitorremediación de metales (Salt et al., 1998; Salt y Krämer, 2000).

**El concepto de hiperacumulación.** En 1885, Baumann, un botánico alemán que trabajaba en la frontera entre Bélgica y Alemania, observó que las hojas de ciertas especies vegetales desarrolladas sobre suelos enriquecidos con Zn de forma natural, contenían niveles extraordinariamente altos de este micronutriente (Baumann, 1885). Dos especies, una violeta (*Viola calaminaria*) y una mostaza (*Thlaspi calaminare*; más recientemente clasificada como *Thlaspi caerulescens*, Ingrouille y Smirnoff, 1986), contenían entre un 1% y un 1.7% de Zn en peso seco de hoja, respectivamente. Este resultado se puede comparar con los niveles foliares de Zn de 0.001% y 0.02% en peso seco de plantas crecidas sobre suelos no contaminados. Cincuenta años después, estudios realizados en EE.UU. implicaron al Se como el componente de la planta responsable de una enfermedad en animales de granja en Dakota del sur. Estas observaciones condujeron al descubrimiento de plantas hiperacumuladoras de Se, del género *Astragalus* capaces de acumular más de un 0.6% de Se en peso seco de parte aérea (Byers, 1935, 1936). Poco después, dos botánicos italianos (Minguzzi y Vergnano, 1948), descubrieron plantas que podían acumular Ni. Observaron que en hojas secas de *Alyssum bertolonii*, crecidas sobre suelos serpentínicos ricos en Ni cerca de Florencia (Italia), contenían casi un 1% de Ni, de 100 a 1000 veces más alto que otras plantas que crecían en las cercanías.

Después de estas observaciones tempranas, Baker y Brooks (1989), también describieron plantas que podían acumular niveles altos de Co, Cu, Mn, y posiblemente el Pb. Sin embargo, la existencia de hiperacumuladoras de otros metales que no fueron Ni, Zn y Se ha sido cuestionada continuamente y requiere mayor comprobación. Las primeras hiperacumuladoras caracterizadas fueron miembros de las familias *Brassicaceae* y *Fabaceae*. Actualmente, al menos 45 familias vegetales se sabe que contienen especies acumuladoras de metales. El número de Taxones identificados hasta la fecha supera los cuatrocientos. Conforme se investigan más ambientes enriquecidos en metales, se identificarán nuevas especies hiperacumuladoras, y pueden reclasificarse especies silvestres como no-acumuladoras después de un análisis más pormenorizado (Salt and Krämer, 2000).

El papel ecológico de la hiperacumulación de metales aún no está totalmente claro. Se ha sugerido que la acumulación de metales proporciona protección contra ataques de hongos e insectos (Reeves et al., 1981; Boyd y Martens, 1992). Evidencias más recientes confirmaron la función protectora de la hiperacumulación de Ni contra hongos y bacterias patógenas en *Streptanthus polygaloides* (Boyd et al., 1994), e insectos herbívoros en *S. polygaloides* y *T. montanum* (Boyd y Martens, 1994; Martens y Boyd, 1994). Los efectos antiherbivoría del Zn se han demostrado en plantas de *T. Caerulescens* hiperacumuladoras de Zn (Pollard y Baker, 1997).

**Desarrollo de la fitoextracción continua.** La capacidad única de las especies hiperacumuladoras de acumular altas concentraciones foliares de metales hace que estas plantas sean muy útiles para el desarrollo de cultivos utilizados en *fitorremediación* para *fitoextracción continua*. Esta idea fue introducida por Chaney (1983), y Backer et al. (1988). La planta "ideal" para *fitoextracción continua*, tiene que crecer sobre suelos contaminados, producir una alta biomasa y acumular y resistir altas concentraciones de metales en su parte aérea. Los primeros experimentos de campo, de *fitoextracción continua* se realizaron en 1991 con una eficacia moderada (Baker et al., 1991). La mayoría de las hiperacumuladoras más conocidas, producen baja biomasa y/o tienen un crecimiento lento, mientras que las plantas con crecimiento rápido y con alta biomasa son sensibles a los metales y acumulan solamente cantidades pequeñas en su parte aérea. Para superar estas limitaciones, estos dos componentes de esta estrategia a largo plazo, necesitan desarrollarse para que la *fitoextracción continua* sea efectiva (Salt et al., 1998).

Primero, es necesario mejorar la supervivencia de las líneas de plantas fitoextractoras (Kneen et al., 1990; Kunar et al., 1995; Delhaize, 1996), así, como la investigación sobre nuevas hiperacumuladoras de metales con alta biomasa. La utilidad de esta búsqueda se demostró recientemente con la identificación de una planta de la familia *Asteraceae* con alta biomasa (*Berkheya coddii*) procedente de Sudáfrica, capaz de acumular más de un 3.7% de Ni en biomasa seca de parte aérea (Morrey et al., 1992). Esta especie, y otras relacionadas pueden tener un potencial significativo en *fitorremediación*, debido a la fuerte hiperacumulación, relativamente alta producción de biomasa, y la capacidad para crecer con elevadas densidades de plantación. Los procedimientos y avances biotecnológicos de la

producción de hiperacumuladores de metales con alta biomasa deben también considerarse. La genética moderna puede utilizarse para la transferencia de genes para la hiperacumulación en plantas no acumuladoras (Salt et al., 1998).

Segundo, necesitamos comprender y explotar los procesos biológicos involucrados en la absorción, transporte, y acumulación de metales, en ambos tipos de plantas, hiperacumuladoras y no acumuladoras. La literatura de nutrición vegetal es amplia en información relacionada con la tolerancia, absorción, transporte y acumulación de metales (Kochian, 1991; Marschner, 1995; Welch, 1995; Meagher, 2000), y continuamente revisamos brevemente las áreas de relevancia particular en *fitoextracción*.

#### 1.4.2.3.- Mecanismos de resistencia a metales.

La *fitoextracción continua* se basa en la capacidad de las plantas para acumular metales en su parte aérea, durante periodos de tiempo extensos. Para ello, tienen que poseer mecanismos eficientes para la detoxificación de los metales acumulados. La observación reciente de la resistencia al Ni en *Thlaspi goesingense* es un determinante primario de hiperacumulación de Ni cuando las plantas se desarrollan en cultivo hidropónico (Krämer et al., 1997), que apoya esta conclusión. Por lo tanto, la capacidad de manipular la tolerancia de metales en plantas es clave para el desarrollo de cultivos eficientes para *fitorremediación*. Una elegante demostración de este principio se obtuvo con una *Arabidopsis thaliana* resistente a mercurio ( $Hg^{2+}$ ), con una actividad mercurio-reductasa bacteriana sobreexpresada, que podía eliminar eficientemente  $Hg^{2+}$  de la solución nutritiva (Rugh et al., 1996).

La tolerancia a metales pesados en plantas superiores, es el resultado de diferentes procesos, para soportar concentraciones tóxicas de metales pesados en el citoplasma y en los orgánulos y son procesos específicos para cada elemento y cada especie (Neumann et al., 1997). Aminoácidos (Reilly, 1972), ácido málico (Mathys, 1977), ácido cítrico (Lee et al., 1977; Thurman y Rankin, 1982), fitoquelatinas (Grill et al., 1985, 1987, Neumann et al., 1995), ácido fítico (van Stevenink et al., 1990; 1994), compuestos fenólicos (Neumann et al., 1995), y proteínas (Neumann et al., 1995), están todos implicados en la quelación o

precipitación de metales pesados. Además, algunas especies son capaces de excretar cantidades considerables de metales pesados (Ernst, 1974; Ernst et al., 1992). La especificidad de los mecanismos de tolerancia de las especies a los metales pesados se puede demostrar claramente comparando dos especies de plantas crecidas en las mismas condiciones: en plantas de *Armeria maritima ssp.*, el Cu se acumuló en las vacuolas de los idioblastos (células taníferas), por quelación con compuestos fenólicos, y en la pared celular, el citoplasma plastidial, y el núcleo, por unión a proteínas (Neumann et al., 1995).

En *Armeria maritima*, los metales pesados se excretan por glándulas salinas (Ernst, 1974; Ernst et al., 1992), mientras que en *Minuartia verna*, los hidatodos realizan esta función, dependiendo de la humedad y de la temperatura (Neumann et al., 1995). Los metales pesados que permanecen en la planta, pueden encontrarse exclusivamente en el espacio intercelular y la pared celular. El Zn, por ejemplo se encuentra en forma de silicato de Zn en la pared de las células epidérmicas (Neumann et al., 1997). El hecho de no detectar metales pesados en el citoplasma, orgánulos, o vacuolas, puede ser el resultado de la excreción de los metales hacia el espacio intercelular, o la prevención de la absorción por las células, siendo esta última la explicación más lógica, pues en plantas superiores no se conoce ningún sistema de transporte de metales pesados hacia el exterior (Neumann et al., 1997).

Para desarrollar plantas hipertolerantes y capaces de acumular altas concentraciones de metales, es necesario y vital comprender la existencia de estrategias moleculares y bioquímicas que adoptan las plantas para resistir la toxicidad de metales. Los procesos involucrados en la detoxificación intracelular de metales pesados se han revisado extensamente (Tomsett y Thumran, 1988; Jackson et al., 1990; Ernst et al., 1992). Los mecanismos que pueden ser potencialmente manipulados para mejorar la resistencia de los cultivos a altas concentraciones de metales, son la quelación, la compartimentación, la biotransformación, y los mecanismos de reparación celular (Salt et al., 1998).

**Quelación.** La quelación de iones metálicos por ligandos altamente sí reduce la concentración de estos iones libres en la solución, reduciendo así su fitotoxicidad. Dos clases de principales de peptidos quelates de metales pesados se conocen en las plantas:

metalotioneínas y fitoquelatinas. Las metalotioneínas se codifican genéticamente, son de bajo peso molecular y péptidos ricos en cisteína (Robinson et al., 1993). Las metalotioneínas vegetales se inducen por el Cu y tienen gran afinidad por este metal (Zhou y Goldsbrough, 1995; Murphy et al., 1997). Investigaciones recientes los niveles de expresión de metalotioneínas (MT) en *A. thaliana* demostraron que el nivel de expresión de ARNm del gen MT2 se correlacionó estrechamente con la resistencia al Cu (Murphy y Taiz, 1995), sugiriendo que la metalotioneína está implicada en la resistencia al Cu. Las fitoquelatinas son péptidos de bajo peso molecular, sintetizados enzimáticamente, ricos en cisteína, y se unen al Cd y al Cu en las plantas (Rauser, 1995; Cobbett, 2000). Estos péptidos son esenciales para la detoxificación del Cd en *A. Thaliana*. (Howden et al., 1995). Aunque no se ha definido como quelación, la precipitación del Zn como fitato de Zn, se ha sugerido también como mecanismo de detoxificación (Van Steveninck et al., 1992). Probablemente, la precipitación intra- y extracelular de Pb como carbonatos, sulfatos y fosfatos juegue un papel importante en la detoxificación de este metal en los tejidos vegetales (Salt et al., 1998).

**Compartimentalización.** En el interior celular, Cd y fitoquelatinas si se acumulan en la vacuola (Vogeli-Lange y Wagner, 1990), y esta acumulación parece que se induce por un antiporte Cd/H y una proteína transportadora de PC dependiente de ATP (Salt y Wagner, 1993; Salt y Rauser, 1995). Un sistema similar de detoxificación de Cd existe en la fisión de levaduras mutantes de *Schizosaccharomyces pombe*, que carecen de la capacidad de acumular el complejo Cd-PC en la vacuola, son sensibles al Cd, y tienen un defecto en el gen *html* que codifica la unión de ATP a un transportador de proteínas (Ortiz et al., 1992). El producto del gen *html* es responsable del transporte del complejo Cd-PC dentro de la vacuola (Ortiz et al., 1995). Una vez en el interior de la vacuola, se une un sulfuro al complejo Cd-PC, formando un complejo Cd-PC-Sulfuro, más estable y de alto peso molecular, esencial para la resistencia de la levadura al Cd (Ortiz et al., 1992; Speiser et al., 1992).

En vacuolas intactas aisladas a partir de tabaco y cebada expuesta a Zn, también se mostró que acumulaban este metal (Krotz et al., 1989; Brune et al., 1994). La acumulación vacuolar de Zn se confirmó en raíces y tallos de *Thlaspi caerulescens*, que es una hiperacumuladora de Zn (Vazquez et al., 1992; 1994). La acumulación del Zn dentro de la

vacuola, como mecanismo de detoxificación de Zn, se apoya también por la observación de que el volumen vacuolar de las células meristemáticas de *Festuca rubra* se incrementa durante la exposición al Zn (Davies et al., 1991). Los tricomas foliares también parece que proporcionan lugares para el secuestro de Cd (Salt et al., 1995), Mn (Blamey et al., 1986), y Pb (Martell, 1974).

**Biotransformación:** La toxicidad de metales y metaloides como Cr, Se, y As puede reducirse en las plantas por reducción química de los elementos y/o por incorporación en compuestos orgánicos (Salt et al., 1998). El exceso de Se es tóxico para la mayoría de las plantas porque se metaboliza a selenocisteína y selenometionina, que reemplaza residuos de cisteína y metionina en las proteínas (Kopsell y Randelle, 2000). Por incorporación de Se en aminoácidos no-proteinogénicos como metil-selenocisteína y seleno-cistationina, las especies de *Astragalus*, acumuladoras del Se, son capaces de reducir la cantidad del Se incorporado en proteínas, tolerando así elevadas concentraciones de Se en la parte aérea (Läuchli, 1993). Recientemente, la enzima responsable de la metilación de la selenocisteína en plantas de *Astragalus bisculatus* acumuladoras de Se se aisló y caracterizó, el primer paso en la determinación de las bases moleculares de la resistencia de las plantas al Se (Neuhierl y Böck, 1996). También parece que varias especies acumuladoras de Se son capaces de excluir selectivamente el Se de la ruta de biosíntesis de la metionina, evitando así la síntesis de selenometionina, un seleno-derivado tóxico de la metionina (Burunell, 1981). El Se también se volatiliza por mecanismos de fitovolatilización (Terry, 2000).

El As es tóxico para las plantas, tal y como se demostró con el uso de compuestos organoarsenicales como herbicidas, aunque se sabe poco de la detoxificación del As en plantas terrestres. Sin embargo, en macroalgas marinas, el As se incorpora en varios dimetil-arsenil-ribósidos y ciertos lípidos (Francesconi y Edmonds, 1994), y probablemente las plantas terrestres también biotransformen el As por esta vía. El Cr es también tóxico para las plantas, y hay escasas evidencias de que las plantas, como ciertas bacterias y animales, puedan reducir Cr(VI) a Cr(III) como parte de un mecanismo de detoxificación.

**Mecanismos de reparación celulares.** Un componente principal de la resistencia celular a las altas concentraciones de Cu parece que consiste en incrementar la resistencia, o reparar, los daños inducidos por Cu en la membrana plasmática (De Vos et al., 1989; Strange y Macnair, 1991; Murphy et al., 1997). La observación de que las metalotioneínas vegetales pueden unirse a la membrana plasmática (Murphy et al., 1997), sugiere un posible mecanismo por el cual las metalotioneínas pueden estar involucradas en la reparación de ésta. La implicación de los mecanismos de reparación de las membranas en la resistencia al Cu están también fuertemente apoyados por observaciones recientes de una proteína portadora de grupos acilo (ACP) y una proteína de unión a Acetil-Coenzima A (AcylCoA), dos proteínas que se saben implicadas en el metabolismo de los lípidos y que se inducen en *A. thaliana* por exposición a Cu. Además, la retro regulación (*antisense*), o en contra sentido de la expresión de ACBP incrementaba la sensibilidad de Cu, apoyando el papel de la reparación de membranas en la resistencia a Cu (Salt et al., 1998).

La resistencia a los metales será claramente una característica importante en los cultivos útiles para *fitorremediación*. Mientras que la resistencia a los metales, por si sola, puede no ser suficiente para permitir a las plantas acumular altas concentraciones de metales. La biodisponibilidad del metal, la absorción radical, y el transporte son también esenciales para una *fitoextracción* efectiva.



#### 1.4.2.4.- Biodisponibilidad, absorción radical acumulación de metales en la parte aérea.

El aumento de la biodisponibilidad de iones metálicos en el suelo por la adición de quelatos es un componente esencial de la *fitoextracción inducida* y también puede ser importante para la *fitoextracción continua*. Esto se ilustra con los mecanismos implicados en la adquisición de Fe y otros micronutrientes por las plantas. Debido a la gran capacidad de unión a los micronutrientes metálicos de las partículas del suelo, las plantas han desarrollado distintas estrategias para aumentar su biodisponibilidad en el suelo. Estas estrategias incluyen la producción de compuestos quelantes de metales (fitosideróforos) como los ácidos mugénico y avénico (Kinnerseley, 1993), que se sintetizan en respuesta a la deficiencia de Fe (Higuchi et al., 1994, 1996; Kanazawa et al., 1994) y posiblemente de Zn (Cackmak et al., 1996a, 1996b). En la rizosfera, los fitosideróforos quelan y movilizan Fe, Cu, Zn, y Mn (Römheld, 1991). Una vez unidos al fitosideróforo, los iones metálicos pueden transportarse a través la membrana plasmática como complejo metal-fitosideróforo vía transportadores especializados (Von wieren et al., 1994, 1995). Por la reducción de Fe(III) quelado con una Fe (III)-quelato-reductasa radical (Moog y Bruggemann, 1994), las plantas son también capaces de liberar Fe(II) soluble para la absorción radical (Yi y Guerinot, 1996). Existen también evidencias de que esta Fe (III)-quelato-reductasa puede jugar un papel general en la absorción de Cu y Mn (Welch et al., 1993). Las plantas también pueden solubilizar el hierro y otros metales por exudación de protones desde las raíces, para acidificar la rizosfera (Crowley et al., 1991). Por lo tanto, es posible aumentar la biodisponibilidad de metales contaminantes, manipulando estos procesos de las raíces. La liberación de agentes quelatantes vegetales debería reducir la necesidad de añadir quelatos sintéticos, reduciendo así el coste de la *fitoextracción* (Salt et al., 1998).

Posiblemente a excepción del Fe, se sabe poco acerca de los mecanismos moleculares de la entrada de metales a células de las raíces. No obstante, recientemente se han clonado transportadores alternativos de Cu (COPT1) e Fe (IRT1) de la membrana plasmática de *A. thaliana* usando complementaciones funcionales en levaduras (Kampfenkel et al., 1995; Eide et al., 1996). Varios genes se han aislado recientemente a

partir de *A. thaliana*, que parecen codificar transportadores del Zn en la membrana plasmática (Guerinot, 1997), con un experimento de metal en levaduras, se ha identificado un gen de raíces de trigo que incrementa la absorción de Pb y Cd en levaduras transgénicas que expresan dicho gen (Antosiewicz, 1996). Se ha sugerido que éste gen puede codificar un transportador alternativo de metales en la membrana plasmática. Estos datos proporcionan una perspectiva molecular importante en el transporte en la membrana plasmática de las plantas y sugieren la posibilidad cercana de manipular sistemas de transporte de metales, para promover la *fitoextracción* de metales tóxicos (Antosiewicz, 1996; Guerinot, 1997).

Una vez los iones metálicos son absorbidos por las raíces, se pueden almacenar o exportar hacia la parte aérea. El transporte de metales hacia la parte aérea, tiene lugar principalmente en el xilema. La carga del Cd en la savia del xilema de *Brassica juncea* muestra una cinética de saturación bifásica (Salt et al., 1995), que sugiere que la carga xilemática de iones metálicos se facilita por procesos especializados de transporte en la membrana. Trabajos recientes con hiperacumuladoras de Ni del género *Alyssum* sugieren que la carga de Ni en el xilema puede facilitarse por la unión del Ni a histidina libre (Krämer et al., 1996). El movimiento de iones metálicos, particularmente el Cd, en el xilema, parece ser dependientes principalmente del flujo de masas dirigido por la transpiración (Salt et al., 1995).

La alta capacidad de intercambio iónico de las paredes celulares del xilema se supone que retarda severamente el movimiento ascendente de cationes metálicos. Por lo tanto, los complejos no catiónicos de metal-quelato, tales como Cd-citrato, deben transportarse más eficientemente en corriente de transpiración (Senden et al., 1990). Los estudios teóricos predijeron que la mayoría del Fe(II) y del Zn(II) en la savia de xilema deberían estar quelados por citrato, mientras que el Cu(II) debe ser quelado por varios aminoácidos, incluidos histidina y asparagina (White et al., 1981). El aislamiento del complejo citratoquelato de Ni (II) en látex de *Sebertia acuminata*, hiperacumuladora del Ni, apoya el papel de los ácidos orgánicos en el transporte de metales (Lee et al., 1977). El análisis de absorbancia de rayos X (EXAFS), mostró que el Cd en la savia del xilema de *B.*

*Juncea* era quelado por átomos de oxígeno o de nitrógeno, sugiriendo la implicación de los ácidos orgánicos en el transporte de metales (Lee et al., 1977). El análisis por EXAFS, no proporcionó ninguna evidencia de que la coordinación entre S y Cd, confirmando que las fitoquelatinas y otros ligandos que contienen grupos tiol, no juegan un papel directo en el transporte de Cd en el xilema. La espectroscopia de rayos-X, también demostró que una parte del Ni y del Zn transportados a la parte aérea en *T. goesingense* (hiperacumuladora de Ni) y en *T. caerulea* (hiperacumuladora de Zn), está coordinado con ácidos orgánicos (Salt et al., 1998). No obstante, también se sugiere que, cantidades importantes de Ni y de Zn se transportan en la savia de xilema como cationes hidratados. Una especiación similar del Ni en la savia del xilema de la hiperacumuladora de Ni *Allyssum lesbiacum* se estableció por un modelo matemático (Krämer et al., 1996).

Otros compuestos quelantes también pueden jugar un papel en la movilidad de los iones metálicos en plantas. El aminoácido no proteínico nicotinamida está ampliamente distribuido entre las plantas y tienen la capacidad de formar complejos con varios iones metálicos divalentes incluidos Cu, Ni, Co, Zn, Fe, y Mn (Stephan et al., 1990). Investigaciones con plantas de tomate mutantes *Chloronerva*, que carece de la posibilidad de síntesis de nicotinamida (Higuchi et al., 1996), demostraron que estaba involucrada probablemente en la distribución de Fe (II), Zn y Mn, en tejidos jóvenes en desarrollo vía floema (Stephan y Scholz, 1993) y en el transporte de Cu dentro del xilema (Pich y Scholz, 1996). Evidencias recientes sugieren también que en *A. thaliana* el Cu celular se transporta quelado con una proteína de bajo peso molecular análoga funcional de la proteína de unión a Cu de las levaduras (ATX1), y además los metales pueden transportarse en el floema unidos a otros metabolitos o proteínas de bajo peso molecular (Marentes et al., 1996).

El aumento en la tasa de transporte de metales desde las raíces hacia la parte aérea, parece ser importante para la hiperacumulación de Zn en *T. caerulea* (Lasat et al., 1996), sugiriendo que las modificaciones en los procesos de transporte descritos anteriormente permiten el desarrollo de planta con una capacidad de transporte los iones metálicos contaminantes desde la zona radical hacia la parte aérea elevada, un importante hallazgo en el desarrollo de cultivos para una *fitoextracción* efectiva.

### 1.4.3.- Fitovolatilización de metales.

La volatilización de Se a partir de tejidos de vegetales puede proveer un mecanismo de detoxificación del Se. Ya en 1894, Hofmeister propuso que el Se en los animales se detoxifica por la liberación de dimetil-selenio volátil desde los pulmones. Este autor se basó en el hecho de que el olor del dimetil-telúrido se detectaba en el aliento de los perros a los que inyectaba telúrito de sodio. Usando la misma lógica, se sugirió que el "olor a ajo" de las plantas que acumulan Se, puede indicar la liberación de compuestos volátiles de Se. Lewis et al., (1966), fueron los primeros en mostrar que en ambos tipos de especies, acumuladoras y no acumuladoras, volatilizan el Se. Esto lo confirmaron después otros autores (Evans et al., 1968; Zieve y Peterson, 1984; Duckart et al., 1992; Zayed y Terry, 1992, 1994; Terry et al., 2000). El compuesto volátil del Se liberado a por la especie acumuladora de Se *Astragalus racemosus* se identificó como dimetil-diselenio (Evans et al., 1968). El Se liberado por la alfalfa, no acumuladora de Se, era diferente al de las especies acumuladoras y se identificó como dimetil-selenio (Lewis et al., 1974).

Sin embargo, no está claro si las plantas son capaces de absorber Se orgánico (como selenato o selenito) y reducirlo y metilarlo a formas volátiles. Trabajos Zayed y Terry, (1994), demostraron que la adición del antibiótico penicilina al medio hidropónico de crecimiento de *Brassica juncea*, inhibió la volatilización de Se aproximadamente en un 90% cuando se suministró el Se como selenato. Sin embargo, las plantas puede aún volatilizar Se en ausencia de rizobacterias, cuando se suministra como selenometionina (Terry y Zayed, 1997). Esto sugiere, que las bacterias asociadas a las raíces juegan un papel importante en la reducción y asimilación de selenio a formas orgánicas. No obstante, se necesita más investigación para clarificar el papel de los procesos bioquímicos de los microorganismos en la volatilización del Se por las plantas.

La volatilización de As como dimetilarsenito se ha postulado como un mecanismo de resistencia en algas marinas. Aunque no está claro si las plantas terrestres también pueden volatilizar el As en cantidades significativas. Estudios sobre la absorción y distribución del As en plantas superiores indican que el As se acumula predominantemente

en las raíces y sólo pequeñas cantidades se transportan hacia la parte aérea. Sin embargo, las plantas pueden incrementar la biotransformación del arsénico por las bacterias rizosféricas, favoreciendo así su volatilización.

Más recientemente, una reductasa bacteriana de Hg modificada se ha introdujo en *A. thaliana* transgénica, que convierte  $Hg^{2+}$  en mercurio elemental ( $Hg^0$ ). Además de ser más tolerantes, estas plantas transgénicas son muy eficientes para la volatilización de Hg (Rugh et al., 1996; Pilon-Smits y Pilon, 2000). La *fitovolatilización de metales* puede tener una ventaja única sobre la *fitoextracción*, porque elimina la necesidad de cosechar y eliminar la biomasa contaminada de metales. Sin embargo, las implicaciones medio ambientales de la volatilización de metales tienen que considerarse antes de esta técnica se acepte por la sociedad.

#### 1.4.4.- Fitorremediación de contaminantes orgánicos.

La utilización de plantas para purificar aguas contaminadas con contaminantes orgánicos e inorgánicos, se utiliza desde hace cientos de años y ha sido la base del uso actual de humedales para el tratamiento de lodos residuales urbanos e industriales (Hartman, 1975). El concepto de utilización de plantas para remediar suelos contaminados con contaminantes orgánicos es un desarrollo más reciente, y está basado en la observación de la desaparición más rápida de sustancias químicas orgánicas en suelos con cubierta vegetal, en comparación con suelos de campos desnudos en la mayoría de su superficie (Curl y Truelove, 1986; Aprill y Sims, 1990; Walton y Anderson, 1992; Cunningham y Berti, 1993; Ferro et al., 1994; Burken y Schnoor, 1996; Hedge y Fletcher, 1996). El estudio metabólico subsecuente establecía la capacidad de las plantas para absorber y metabolizar contaminantes orgánicos problemáticos para el medio ambiente, incluyendo residuos de munición como por ejemplo TNT (Trinitrotolueno) y NTG (Nitroglicerina), bifenilos policlorados (PCBs), y tricloroetileno (TCE) (Schnoor et al., 1995; Goel et al., 1997; Hughes et al., 1997; Newman et al., 1997).

Además de la absorción directa y del metabolismo de compuestos orgánicos, las plantas liberan por sus raíces, exudados que favorecen la biorremediación microbiana en la rizosfera, lo que se ha denominado *fitorremediación ex planta* (Anderson et al., 1993; Cunningham et al., 1996). A continuación se presenta una breve revisión de estas dos estrategias básicas de *fitorremediación*. Se han publicado recientemente revisiones sobre este tema (Cunningham y Berti, 1993; Anderson et al., 1995; Schnoor et al., 1995; Cunningham y Ow, 1996). De hecho una revisión de Cunningham et al. (1996), provee una discusión en profundidad de las consideraciones técnicas, logísticas, económicas y estratégicas de la *fitorremediación* de suelos contaminados con contaminantes orgánicos.

#### 1.4.4.1.- Absorción directa y metabolismo de compuestos orgánicos.

**BIODISPONIBILIDAD Y ABSORCIÓN.** Por analogía con la *fitoextracción* de metales, la absorción directa de contaminantes orgánicos está limitada principalmente, por la disponibilidad del compuesto en cuestión y por los mecanismos de absorción. Las plantas pueden absorber sustancias químicas desde tres fases distintas del suelo: vapor, líquida y sólida (Cunningham et al., 1996). Con escasas excepciones notables, como la absorción de algunos hidrocarburos aromáticos (PAHs) y herbicidas, a partir de la fase vapor, el movimiento de los compuestos orgánicos hacia el interior de la planta se produce a través de la fase líquida, lo que se ha investigado extensamente para la absorción de pesticidas y herbicidas (Briggs et al., 1982; Topp et al., 1986; Paterson et al., 1990). Un criterio principal en la evaluación de la probabilidad de que un compuesto químico objeto de estudio sea absorbido por la planta es su carácter lipofílico. Ésta característica dirige su movimiento a través de las membranas vegetales, así como su solubilidad en la fase acuosa. Los compuestos químicos más adecuados para ser absorbidos son ligeramente hidrófobos, con coeficientes de distribución octanol-agua de entre 0.5 y 3.0 (Briggs et al., 1982; Ryan et al., 1988).

Además de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos objeto de descontaminación, otros factores, incluyendo las condiciones del suelo (como el pH, nivel hídrico, contenido en compuestos orgánicos, textura; Edwards (1986), Ryan et al. (1988), Topp et al. (1986), Anderson (1992), Bollag et al. (1995) y la fisiología de la planta

(MacFarlane et al., 1987, 1990), influyen sobre su solubilidad y absorción. Las diferencias en la absorción de compuestos orgánicos entre especies y variedades está es reconocida (Lichtenstein y Schultz, 1965; Harris y Sans, 1967) y debe ser una consideración principal en el desarrollo eficaz de estrategias de *fitorremediación*. Las investigaciones de especies vegetales para que absorben y metabolizan contaminantes orgánicos importantes son limitadas, y se llevaron a cabo sólo en pocos grupos de investigación (Schnoor et al., 1995). Un estudio más exhaustivo podría producir nuevas especies o variedades con mayor capacidad de fitorremediar contaminantes ambientales, en la misma medida en que se investiga para identificar a especies fitoextradoras, que pueden acumular grandes cantidades de metales pesados y contaminantes orgánicos (Kumar et al., 1995).

En la actualidad, las estrategias de remediación de compuestos orgánicos se basan en los conocimientos sobre *fitoextracción continua a largo plazo*, análogas a *fitoextracción continua* de metales pesados. La biodisponibilidad es el principal paso limitante de la *fitoextracción* de metales. Del mismo modo, la disponibilidad de contaminantes orgánicos en el suelo parece ser la principal restricción para su *fitorremediación* (Lichtenstein y Schultz, 1965; Cunningham et al., 1996). Mientras que la aplicación de enmiendas a suelos por ejemplo, añadiendo EDTA, se considera como un avance importante en el desarrollo de estrategias de *fitoextracción inducida*, estudios similares para identificar enmiendas para el suelo que puedan inducir la absorción y acumulación de compuestos orgánicos en las plantas son escasas. El uso de detergentes sintéticos (e.g. Triton X-100, SDS) y naturales (rhamnolípidos) para incrementar la hidrosolubilidad aparente, e incrementar la degradación bacteriana de contaminantes orgánicos está ampliamente documentada (Providenti et al., 1995; Van Dyke et al., 1993; Bragg et al., 1994; Providenti et al., 1995; Desai y Banat, 1997). Un trabajo reciente también mostró el uso beneficioso de ciclodextrinas para incrementar la solubilidad de compuestos orgánicos y de metales pesados (Brusseau et al., 1997). Debe investigarse si se podrán aplicar éstos u otros agentes químicos, como enmiendas para incrementar la disponibilidad y absorción de contaminantes orgánicos. La ventaja potencial de la utilización de biosurfactantes o ciclodextrinas, aparte de incrementar la biodisponibilidad de compuestos orgánicos, es su rápida biodegradación en el medio ambiente, la capacidad de sintetizar estos compuestos

en plantas (Oakes et al., 1991) y microorganismos rizosféricos, y la habilidad de estos compuestos de solubilizar contaminantes orgánicos y metales, que puede utilizarse como instrumento en la remediación de suelos con mezcla de contaminantes (Miller, 1995; Nivas et al., 1996).

**BIOTRANSFORMACIÓN Y COMPARTIMENTALIZACIÓN.** Tras su absorción, los compuestos orgánicos tienen diferentes destinos: pueden ser transportados a otros tejidos (Cataldo et al., 1987; Fellows et al., 1996; Schroll et al., 1994) y posteriormente volatilizados; pueden someterse a una degradación parcial o completa (Wolfe et al., 1993; Schnoor et al., 1995; Goel et al., 1997; Newman et al., 1997); o pueden ser transformados a compuestos menos tóxicos que se unen en los tejidos en formas no disponible (Field y Thurman, 1996). La biotransformación y secuestro de herbicidas y pesticidas, en particular, se ha investigado extensamente (Field y Thurman, 1996). Recientemente, el metabolismo de xenobióticos no agrícolas como TCE, TNT, y la nitroglicerina (NTG), se han estudiado usando cultivos axénicos de células y plantas enteras (Schnoor et al., 1995; Goel et al., 1997; Newman et al., 1997). En general, muchos compuestos orgánicos parece que sufren cierto grado de transformación en las células antes de ser secuestrados en las vacuolas o unidos de forma insoluble a estructuras celulares como la lignina. El metabolismo del herbicida cloroacetanilida, por ejemplo, resulta en la producción de compuestos reducidos y oxidados que contienen azufre que siguen la conjugación a glutatión (Field y Thurman, 1996). El éster de nitrato, NTG, se degrada a glicerol dinitrato y glicerol mononitrato en cultivos celulares de remolacha (Goel et al., 1997), y el metabolismo del TCE en álamos genera tricloroetanol y ácido di- y tricloro acético (Newman et al., 1997). Sin embargo, son pocas las sustancias químicas que se mineralizan completamente a agua y CO<sub>2</sub> por las plantas y en las que se produce, sólo representan un pequeño porcentaje del total de compuestos originarios (Newman et al., 1997). Esta propiedad coloca a las plantas en una desventaja relativa en comparación con las bacterias que degradan contaminantes orgánicos. Además, la posibilidad de que los metabolitos de las plantas sean más tóxicos que los contaminantes originales, crea una dificultad en la regulación medio ambiental para la *fitorremediación* de compuestos orgánicos.



Una consideración importante en el desarrollo de las estrategias de *fitorremediación* de compuestos orgánicos es el destino a corto y largo plazo, así como la toxicidad potencial de los productos finales de la biodegradación de dichos metabolitos. Para sustancias químicas como pesticidas y herbicidas, estas cuestiones tienen, en la mayoría de los casos, que estar perfectamente conocidas, y las evidencias indican que muchos compuestos se ligan irreversiblemente con materiales vegetales (Bocker et al., 1994; Komossa et al., 1995; Trapp y MacFarlane, 1995; Field y Thurman, 1996). La información sobre el metabolismo de contaminantes orgánicos prioritarios es limitada, sin embargo, requerirá una investigación extensa dados los resultados recientes. Por ejemplo, la mayoría de productos de transformación del TNT en *Myriophyllum spicatum* no se han identificado, y una fracción significativa de estos productos se liberan en el medio de cultivo o se asocian a fracciones celulares extraíbles con agua (Hughes et al., 1997). Los estudios sugieren que los productos de degradación del TNT en plantas no son biodisponibles (Palazzo y Leggett, 1986; Wolfe et al., 1993; Schnoor et al., 1995). Las diferencias entre plantas en la distribución de compuestos orgánicos entre raíces y parte aérea, así como las diferencias en el metabolismo de contaminantes orgánicos deben considerarse cuando se escojan especies vegetales específicas para *fitorremediación*.

#### 1.4.4.2.- Fitorremediación *ex Planta*.

Las plantas pueden secretar entre un 10 y un 20% de su fotosintetizados en exudados radicales, que mantienen el crecimiento y la actividad metabólica de diversas comunidades de hongos y bacterias en la rizosfera (Lynch, 1982; Moser y Haselwandter, 1983; Shimp et al., 1993; Anderson et al., 1994). La densidad de bacterias rizosféricas, puede ser tan alta como del doble o cuádruple que la de población que se da en suelos desnudos, y desarrolla un mayor rango de capacidades metabólicas incluyendo la capacidad de degradar un número importante de xenobióticos recalcitrantes (Walton y Anderson, 1992; Anderson et al., 1994). No es sorprendente, por lo tanto, encontrar una tasa más rápida de biodegradación de contaminantes orgánicos en suelos cultivados, en comparación con suelos no cultivados (Hedge y Fletcher, 1966; Curl y Truelove, 1986; Ferro et al., 1994; Anderson y Walton, 1995; Burken y Schnoor, 1996). Algunos

compuestos orgánicos de los exudados radicales como fenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, y proteínas, pueden servir como fuentes del carbono y de nitrógeno para el crecimiento y la supervivencia a largo plazo de microorganismos que son capaces de degradar contaminantes orgánicos. Por ejemplo, compuestos fenólicos vegetales como catecol y ácido cumárico pueden servir como co-metabólitos para las bacterias que degradan PCBs (Bedard et al., 1987; Donnelly et al., 1994; Fletcher y Hedge, 1995; Hedge y Fletcher, 1996).

La composición química y la tasa de la exudación de las raíces difiere considerablemente entre especies vegetales (Rao, 1990). Esto llevó a determinados investigadores a buscar especies que exudaran fenoles capaces de mantener bacterias degradadoras de PCBs (Fletcher y Hedge, 1995). Aunque los estudios para conocer los mecanismos de degradación de compuestos orgánicos por plantas facilitada por microbios están surgiendo, varios estudios de campo y experimentos piloto han examinado el uso de plantas específicas para la degradación de contaminantes orgánicos. Los suelos con *Agropyron desertorum* mostraron un incremento en la mineralización de PCBs (Ferro et al., 1994), mientras que la eliminación más rápida de PHAs se alcanzó con la utilización de céspedes con pratenses (Foth, 1990; Anderson y Walton, 1995). Estudios similares examinaron la degradación de TCE (Foth, 1990; Anderson y Walton, 1995) y TNT (Wolfe et al., 1993).

Los microorganismos rizosféricos también pueden acelerar los procesos de remediación mediante la volatilización de compuestos orgánicos como PHAs o por incrementar la humificación de contaminantes orgánicos (Dec y Bollag, 1994; Cunningham et al., 1996). En particular, la liberación de enzimas oxidorreductasas como la peroxidasa, por estos microorganismos, así como por las raíces, puede catalizar la polimerización de contaminantes en la fracción húmica del suelo y en la superficie radical (Adler et al., 1994, Dec y Bollag, 1994). La especie *Armoracia rusticana* ha recibido una particular atención con respecto a la producción de peroxidasas radiculares y su potencial uso para remediación de suelos y ríos contaminados (Dec y Bollag, 1994).

**Enzimas de origen vegetal.** Además de la secreción de compuestos orgánicos que mantengan el crecimiento y la actividad de los microorganismos rizosféricos, las plantas también liberan enzimas capaces de degradar contaminantes orgánicos en los suelos.

Enzimas del suelo derivadas de plantas basándose sobre ensayos inmunológicos incluyen: laccasas, dehalogenasas, nitroreductasas, nitrilasas y peroxidasas (Carreira y Wolfe, 1995; Schnoor et al., 1995; Boyajian y Carreira, 1997). La degradación de desechos de munición como TNT, dinitromono-aminotolueno y mononitrodiaminotolueno así como el triaminotolueno se degradan por nitroreductasas y laccasas, respectivamente (Wolfe et al., 1993; Schnoor et al., 1995). Las posibilidades de la liberación de enzimas desde la abscisión de tejidos vegetales de exudados radicales, o fluidos de gutación para proporcionar una estrategia rentable para la *fitorremediación* de contaminantes orgánicos, tiene que ser determinada. La presencia de enzimas de origen vegetal capaces de degradar xenobióticos problemáticos en el medio ambiente como TNT y TCE, debe explotarse sin lugar a dudas para el desarrollo de futuras estrategias de *fitorremediación*.

#### **1.4.4.3.- Conclusiones: Del laboratorio al campo.**

En la actualidad, la *fitorremediación* de metales y contaminantes orgánicos se está desarrollando comercialmente. Además, los avances a corto plazo en *fitorremediación* sobre la selección de variedades más eficientes, enmiendas de suelos, y perfeccionamiento de prácticas agronómicas para el cultivo de las plantas, se hacen más necesarios. Mejoras en la *fitorremediación* a largo plazo llegarán cuando los científicos aislen genes del origen vegetal, bacteriano, y animal, que favorecen la acumulación o degradación de compuestos orgánicos. Además, manipulando las bacterias rizosféricas para incrementar su papel en la *fitorremediación* se podrá aumentar la eficacia en los esfuerzos futuros en *fitorremediación*.

Sin embargo, la biología por sí sola no puede hacer todo el trabajo de *fitorremediación*. La naturaleza altamente integrada de la *fitorremediación* requiere del sinergismo con otras muchas disciplinas. Por ejemplo, el desarrollo paralelo en ingeniería

medio ambiental y agrícola tendrá un mayor impacto sobre la eficiencia en el cultivo de plantas, en la aplicación de enmiendas y en la eliminación de biomasa enriquecida en metales.

Sólo el futuro puede decir si la fitorremediación será una tecnología ampliamente aceptada, sin embargo, está claro que la utilización del notable potencial de plantas superiores para acumular elementos y compuestos del medio ambiente y de realizar transformaciones bioquímicas, está llegando a ser una nueva frontera en la de biología vegetal.

La selección de especies vegetales para *fitorremediación* es un área de investigación actual (Chaney, 1983; Baker et al., 1991). Varias especies se clasifican como acumuladoras de Se, pues poseen la capacidad de extraer y/o de acumular miles de miligramos de Se por kilogramo de peso seco de la parte aérea. Algunas incluyen especies de *Astragalus* y *Sanleya* (Rosenfeld y Beach, 1964). Desgraciadamente, su utilización en *fitorremediación* es limitada a causa de su lento crecimiento y escasa producción de biomasa y no tienen unos requerimientos de crecimiento bien definidos (Parker y Puge, 1994).

La contaminación de suelos y aguas provoca problemas importantes y principales en la salud humana, que se solucionan al menos en parte con la aplicación de tecnologías de *fitorremediación* (Salt et al., 1998).

#### **1.4.5.- Fitoacumulación.**

Los metales pesados que permanecen en el interior de la planta, pueden encontrarse exclusivamente en el espacio intercelular y en la pared celular como el Zn, que se encuentra en forma de silicato del Zn, en la pared de las células de la epidermis, y el hecho de no detectar metales pesados en el citoplasma, en los orgánulos, o en las vacuolas, puede ser el resultado de la excreción de metales hacia el espacio intracelular, o la prevención de la absorción por las células, siendo ésta última la explicación más lógica, pues en plantas superiores no se conocen sistemas de transporte de metales pesados hacia el exterior

(Neumann, 1997).

La acción directa del Ni sobre los tejidos meristemáticos, sugiere su acumulación en el ápice de la raíz, lo que conllevaría a una fuerte inhibición del crecimiento radical (L' Huiller et al., 1996). Las relativamente altas concentraciones de Ni encontradas en la parte aérea, y especialmente en los cloroplastos, sugieren que el Ni tiene un efecto tóxico a este nivel, resultando en una disminución en el transporte de carbohidratos entre la parte aérea y la raíz (Veeranjaneyulu y Das, 1982 L' Huiller et al., 1996)

Investigaciones previas con *Thlaspi caerulescens*, mostraron que altas concentraciones de Zn se compartimentalizan principalmente en vacuolas (Vázquez et al., 1992; 1994). Los altos niveles de metales en la planta inducen a altas concentraciones de malato en *T. caerulescens* (Tolrà et al., 1996) y a altos niveles de histidina en especies de *Alyssum* (Krämer, 1996), lo que se relacionó con la detoxificación de altas concentraciones de Zn y Ni, respectivamente.

En las células de las plantas no-acumuladoras de Al, este último se une al núcleo, a las mitocondrias y a proteínas intercelulares (Aniol, 1984; Tice et al., 1992). El Al se localiza en la parte superior de las células epidérmicas y también se distribuye por el mesófilo (Watanabe et al., 1998).

Los metales como Ag (I), AsO<sub>3</sub> (-III), Cd (II), Co (II), Cu (II), Hg (II) y Ni (II) son secuestrados por unión con S orgánico (R-SH) en los residuos de cisteína (Meagher, 2000). En plantas de *Brassicaceae* como (*Thlaspi goesingense*), la histidina, es el único compuesto orgánico implicado en la movilización y transporte de Ni (II) y Zn (II) desde la rizosfera hacia las raíces (Salt et al., 1999; 2000). Por otra parte, según Hocking (1994), la fitoacumulación de metales depende de la movilidad de cada elemento y del tamaño del sumidero, Por ejemplo el Ni se transporta rápidamente dentro de la planta, donde se acumula en cantidades superiores al 3% del peso seco de parte aérea (Krämer et al., 1996).

Salt et al (1998) y Meagher (2000), sugieren que la fitoacumulación de metales y contaminantes orgánicos requiere grandes sumideros para almacenar dichos compuestos. Además, Bocker et al. (1994), Huang y Cunningham (1996) y Huang et al. (1997), comprobaron que la mayor fitoacumulación de metales se produce en aquellos órganos con mayor producción de biomasa.

### **1.5. El contenido de algunos metales pesados en plantas comestibles y su riesgo para la salud humana.**

Aunque algunos microelementos son esenciales para los seres humanos, muchos de ellos pueden también ser tóxicos a niveles por encima de los requeridos por el cuerpo, que son muy bajos. Las condiciones patológicas relacionadas con la toxicidad por metales resultan de anormalidades bioquímicas (genéticas) o fisiológicas (medio ambientales) o por los excesos debidos a uno de los siguientes factores:

- i) consumo excesivo en la dieta,
- ii) absorción excesiva,
- iii) disminución de la eliminación y
- iv) pérdida de nutrientes debida a antagonismo o bloqueo del metabolismo (Gupta y Gupta, 1998).

Cadmio (Cd) y plomo (Pb) pueden entrar en las cadenas alimentarias a través de su concentración en las plantas. Las investigaciones sobre la relación entre el contenido de metales pesados en el suelo y su concentración en las plantas son vitales para determinar las causas de la toxicidad de elementos como el Cd, Pb, As, etc,...así como su difusión o abundancia en el medio ambiente, y su absorción por las plantas (Han y Lee, 1996), puesto que muchas especies pueden acumular grandes cantidades metales pesados sin mostrar ningún síntoma de fitotoxicidad (Bingham, 1979). Así, por ejemplo el Cd se considera como muy peligroso, que puede causar problemas de salud pública a través de su paso a la cadena alimentaria (Das et al., 1997), puesto que puede absorberse en cantidades perjudiciales para los seres humanos (Page y Chang, 1994), sin llegar a ser tóxico para las plantas, pudiendo ser tóxico para humanos y el ganado que consuman dichas plantas. El Cd generado por humos de

tabaco, industrias y poblaciones se conoce como causante de hipertensión, cáncer y desórdenes inmunológicos (Stewart-Pinkham, 1989). Otros síntomas de toxicidad de Cd incluyen fuertes calambres gástricos, vómitos, diarrea, tos, dolor de cabeza, pigmentación de la orina, fallos renales (Berkow, 1992). Los efectos de la toxicidad de Cd pueden confundirse con los efectos de Pb, porque el Cd libre causa deficiencia de Zn, que incrementa la absorción de Pb y la absorción de Cd se incrementa por el fosfato (Stewart-Pinkham, 1989).

El Pb también se considera potencialmente peligroso para la salud humana, aunque los conocimientos sobre el Pb son más limitadas en comparación con el Cd, especialmente la movilidad de Pb en el suelo en relación al crecimiento de la planta (Han y Lee, 1996).

En cuanto al Zn, su toxicidad es generalmente limitada, se produce solamente en casos de sobre dosis accidental por ingestión de grandes cantidades de Zn, normalmente a partir de comidas ácidas, o el uso terapéutico de altas dosis de Zn. Los metales de humos industriales provocan fiebres por inhalación de óxido de Zn y resultan en daños neurológicos (Gupta y Gupta, 1998).

Para el Cu, niveles de 0.1 y 0.2 mg Cu kg<sup>-1</sup> de peso corporal producen desórdenes gastrointestinales en personas sensibles (Bosshard y Zimmerli, 1994). La toxicidad aguda de Cu en humanos es poco frecuente y se asocia con la consumición de comidas y bebidas ácidas (van Campen, 1991). La "enfermedad de Wilson" es un desorden en un autosoma recesivo, en el que la herencia de defectos metabólicos, se asocia con una acumulación gradual y progresiva de Cu en el hígado (Randolph y Rotter, 1989).

La toxicidad por hierro en humanos resulta a partir de la ingestión de suplementos minerales que contienen Fe (II): sulfato férrico (20% Fe), fumarato férrico (33% Fe) y gluconato férrico (12% Fe) (Olson y Becker, 1990). Concentraciones de Fe elemental superiores a 20-30 mg kg<sup>-1</sup> de peso seco pueden causar toxicidad y cantidades superiores a 60 mg kg<sup>-1</sup> son potencialmente letales. El pico de concentración de Fe en suero se produce de 4 a 5 horas después de la ingestión (Gupta y Gupta, 1998). Una concentración de Fe superior a 350-400 µg dL<sup>-1</sup> en suero es peligrosa (Olson y Backer, 1990). La toxicidad de Fe causa

