

**DESARROLLO DE UN PROTOCOLO PARA
LA RIZOFILTRACIÓN DE EFLUENTES
CONTAMINADOS CON MERCURIO
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE FILTROS
VEGETALES CON LA ESPECIE VETIVER
(*Vetiveria zizainodes*)**

TESIS DE MAESTRIA

**NIZA INÉS SEPÚLVEDA ASPRILLA
Ing. Agroforestal, Esp. Ciencias Biológicas**

2013

**DESARROLLO DE UN PROTOCOLO PARA LA RIZOFILTRACIÓN DE
EFLUENTES CONTAMINADOS CON MERCURIO MEDIANTE LA
APLICACIÓN DE FILTROS VEGETALES CON LA ESPECIE VETIVER
(*Vetiveria zizainodes*)**

*Trabajo de Investigación como Requisito Final para Optar por el Título de Magister
en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente*

Por

Esp. NIZA INÉS SEPÚLVEDA ASPRILLA

Director

PhD JHON FREDY BETANCUR PEREZ

Co - Director

Esp. JOSE EDELIK RENTERIA PALACIOS

**UNIVERSIDAD DE MANIZALES
FACULTAD DE CIENCIAS CONTABLES ECONÓMICAS Y ADMINISTRATIVAS
MAESTRÍA EN DESARROLLO SOSTENIBLE Y MEDIO AMBIENTE**

2013

INDICE

	Pg.
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GENERAL	20
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	20
4. MARCO TEORICO	24
4.1 ANTECEDENTES GENERALES	24
4.1.1 Contaminación Ambiental	24
4.1.1.1 Contaminación por Metales Pesados	24
4.1.1.2 El Mercurio (Hg)	26
4.1.1.3 Importancia del Metilmercurio	27
4.1.1.4 Metilmercurio y la Cadena Alimenticia.	28
4.1.1.5 Toxicidad del metilmercurio.	28
4. MARCO TEORICO	29
4.1.1.6 Tragedias Históricas Relacionadas con Metilmercurio	29
4.1.1.7 Ciclo Biogeoquímico del Mercurio	30
4.1.1.8 Umbrales De Tolerancia Del Vetiver Al Mercurio	32
4.1.1.9 Propiedades del Cloruro de Mercurio	33
4.1.2 TRATAMIENTO DE RESIDUOS CON MERCURIO	33



4.1.2.1	Tratamiento de Gases Contaminados con Mercurio	33
4.1.2.2	Tratamiento de Efluentes Contaminados con Mercurio	33
4.1.2.3	Tratamiento de Residuos Sólidos con Mercurio .	34
4.2	BIOTECNOLOGÍA	35
4.2.1	Biotecnología Ambiental	36
4.2.1.1	En la Industria:	36
4.2.1.2	En la Agricultura	37
4.3	Ensayos de Fitotoxicidad	40
4.3.1	Las diferentes fases inducidas por el estrés	40
4.3.1.2	Pruebas de Ecotoxicidad y Estrés al cloruro de mercurio:	40
4.3.1.2.1	Efecto tóxico	45
4.3.1.4	Posibles Rutas de acumulación de metal Hg en la planta	47
4.4	FITORREMEDIACIÓN	49
4.4.1	Desarrollo de distintas técnicas de fitorremediación:	52
4.4.2	RIZOFILTRACION	53
4.5	CARACTERISTICAS DEL SISTEMA VETIVER	55
4.5.1	Fundamentos de la Tecnología Vetiver para tratamiento de aguas	58
4.6	MARCO LEGAL	60
4.7	TIPO DE INVESTIGACION	62
4.7.1	Investigación Documental	62
4.7.2	Investigación de Campo	62
4.7.3	Investigación Experimental	63
4.7.3.1	Investigación exploratoria	63



4.7.3.2	Investigación descriptiva	63
5.	METODOLOGIA	64
5.1	UBICACIÓN GEOGRÁFICA MUNICIPIO DE QUIBDÓ	64
5.1.2	FACTORES CLIMATICOS.	65
5.1.2.1	Temperatura	65
5.1.2.2	Precipitación	66
5.1.3	RECURSO HIDRICO.	66
5.1.3.1	Régimen Hidrológico Del Rio	67
5.2	UBICACIÓN UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DEL CHOCÓ	68
5.3	FASES	69
5.3.1	FASE 1: Análisis bases teóricas de la técnica	69
5.3.2	FASE 2: Establecimiento y desarrollo del cultivo del pasto V.	70
5.3.2.1	Material Vegetal	70
5.3.2.2	Desinfección	70
5.3.2.3	Establecimiento	70
5.3.2.4	Modelo Hidropónico	70
5.3.3	FASE 3: Proceso de diseño del protocolo de rizofiltración	71
5.3.4	FASE 4: Prueba de Ecotoxicidad y estrés al mercurio	74
5.2.4.1	Ensayos de toxicidad	74
6.	RESULTADOS Y DISCUSION	75
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	96
8.	BIBLIOGRAFIA	99



RESUMEN

Siendo el departamento del Chocó, una región de alta actividad minera para la extracción de oro con mercurio, la contaminación por este metal se debe considerar como una emergencia sanitaria debido a los efectos que puede estar dejando en el medio ambiente y en la salud pública. La presente tesis tiene como objetivo principal fomentar el estudio y la aplicación de las Biotecnologías Ambientales, específicamente las técnicas de Fitorremediación; ya que son logística y económicamente convenientes en el momento de diseñar y de llevar a cabo proyectos de remediación, sobre todo en la región dada las privilegiadas condiciones de Biodiversidad que favorece la aplicación de este tipo de sistemas. En su primera parte se revisan y definen los fundamentos teóricos de los procesos de Fitorremediación, posteriormente se citan las especificaciones de la rizofiltración como estrategia para el tratamiento de efluentes contaminados con mercurio y finalmente se muestra el experimento realizado en donde se evaluó el comportamiento de la especie *Vetiveria zizainoides* en condiciones hidropónicas y bajo concentraciones de HgCl_2 .

Palabras claves

Vetiver, mercurio, biotecnología, Fitorremediación, rizofiltración



ABSTRACT

Rizofiltracion Protocol Of Contaminated Wastewater With Mercury Through The Application Of Filters Vegetable Species Vetiver (*Vetiveria zizainodes*) At The Technological University Of The Chocó

Being the Department of Chocó, a region of high mining activity for the extraction of gold with mercury, this metal contamination should be considered a health emergency due to the effects that can be left in the environment and public health. This thesis's main objective is to promote the study and application of the environmental biotechnology, specifically the techniques of Fitorremediación; that they are logistics and economically suitable at the time of designing and carrying out projects of remediation, especially in the given region privileged conditions of biodiversity that promotes the implementation of such systems. In its first part is revised and defined the theoretical foundations of the processes of Fitorremediación, later cited the rizofiltración specifications as strategy for the treatment of wastewater contaminated with mercury and finally shown the performed experiment evaluated the behavior of the species *Vetiveria zizainoides* under hydroponic conditions and low concentrations of HgCl_2 .

Key Words

Vetiveria zizainoides, mercury, biotechnology, Fitorremediación, rizofiltración



INTRODUCCIÓN

La introducción de compuestos químicos extraños al ambiente, con frecuencia puede abatir la capacidad de autolimpieza de los ecosistemas receptores, por lo anterior se hace necesario buscar métodos para acelerar la eliminación de los contaminantes ambientales y así remediar los problemas existentes y disminuir los impactos futuros.

El agua es considerada la víctima más común del mal manejo de los residuos tóxicos generados por dichas industrias¹. Se han planteado diferentes propuestas tecnológicas para corregir este tipo de contaminación^{2,3}; entre las más innovadoras resalta la fitorremediación (Garbisu et al., 2002, Salt et al., 1995).

Frente a los problemas presentados por la presencia de mercurio entre otros metales suspendidos en las aguas contaminadas por actividades mineras para la extracción de oro, las plantas pueden ser biodetoxificadores muy eficientes de metales solubles y particulados.

Actualmente existen estudios tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua.

¹ Nriagu J. 1996. A History of Global Metal Pollution. Science, 272: 222-225

² Navarro AE., Blanco D., Llanos B., Flores J. y Maldonado H. 2004. Bioremoción de Cadmio (II) por desechos de algas marinas. Optimización del Equilibrio y Propuesta de Mecanismo. Revista de la Sociedad Química del Perú, 70: 147-157

³ Blanco D., Llanos B., Cuizano NA., Maldonado H y Navarro AE. 2005. Optimización de la Adsorción de Cadmio divalente en *Lessonia trabeculata* mediante reticulación de CaCl₂. Revista de la Sociedad Química del Perú, 71: 237- 245



Esta novedosa tecnología tiene como objetivo degradar y/o asimilar, los metales pesados, presentes en el suelo, lo cual tiene muchas ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos de lugares contaminados; en primer lugar es una tecnología económica, de bajo costo, en segundo lugar posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y en tercer lugar su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal (Harvey et al., 2002).

Por esto las fitotecnologías basadas en las plantas ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación y recuperación de metales. Se desarrolló una investigación inicial tendiente a desarrollar un protocolo de rizofiltración aplicable en efluentes contaminados por mercurio, utilizando como especie fitodepuradora, el pasto Vetiver.

El uso del pasto vetiver constituye una herramienta importante ya que se ha demostrado a través de diversos estudios que esta planta puede remover contaminantes ya que por sus características morfológicas y fisiológicas, es altamente tolerante a condiciones extremas incluyendo la contaminación por metales pesados y otros contaminantes⁴ (Truong y Baker, 1998).

El uso del vetiver para remover contaminantes (metales pesados, aguas servidas, entre otros) es de bajo costo, ecológico y una herramienta de fitorremediación para el control y la atenuación de la contaminación (Truong, 2000)

⁴Truong, P. & D. Baker. 1998. Vetiver Grass System for environmental protection. Tech. Bull. N° 1998/1. Pacific Rim Vetiver Network, Bangkok (Thailandia).



1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La humanidad se enfrenta a tres crisis a la vez: la mengua de la reserva de energías no renovables en la Tierra, una peligrosa acumulación de gases de calentamiento global y un declive constante de la diversidad biológica”. En este recuento se sintetiza lo que conocemos como el problema ecológico: el deterioro de las condiciones medioambientales de la Tierra, provocado por el indiscriminado uso de recursos no renovables, la producción de gases que van a la atmósfera, los líquidos vertidos en fuentes de agua y la acción destructora de otros seres vivos.⁵

Los problemas ambientales no se pueden analizar ni entender si no se tiene en cuenta una perspectiva global, ya que surgen como consecuencia de múltiples factores que interactúan. Nuestro modelo de vida supone un gasto de recursos naturales y energéticos cada vez más creciente e insostenible.

La crisis ecológica a nivel global es consecuencia de diferentes problemas locales y globales del medio ambiente, como la superpoblación, la contaminación y la destrucción de los recursos naturales, que comprometen la salud de los ecosistemas y del planeta en su conjunto, la cual estaría provocada por la relación que los seres humanos han establecido con el medio ambiente a lo largo de su historia⁶.

Algunos efectos de esta crisis ecológica ya están claramente perceptibles: aumento de las temperaturas, agujero en la capa de ozono, desertificación, acumulación de residuos radiactivos, extensión de enfermedades como el cáncer o la malaria, insalubridad del agua dulce, inseguridad alimentaria, agotamiento de los recursos renovables y no renovables, etc.⁷

⁵ <http://www.educarchile.cl/Portal.Base/Web/VerContenido.aspx?ID=133372> El deterioro ambiental, la teoría del desarrollo sustentable y la eliminación de la pobreza. Consultado el 31 de marzo de 2013

⁶Triandis, H. C., & Suh, E. M. (2002). Cultural influences on personality. *Annual Review of Psychology*, 53(1), 133-160.

⁷ <http://www.medioambiente.gloobal.net/pdf/folleto-1.pdf>. Los problemas ambientales y sus causas. Consultado el 31 de marzo del 2013



La explotación minera (recursos no renovables) en América Latina ocurrida durante los últimos siglos ha sido provocada por un conjunto de fuerzas denominado el complejo TEDIC , que se refiere al resultado del producto de la tecnología, la economía, la demografía, las instituciones y la cultura⁸.

Es verdad que la humanidad necesita una cierta cantidad de minerales para satisfacer algunas de sus necesidades, básicas o no. Pero también es igualmente cierto que el consumo excesivo de una parte de la humanidad está destruyendo las formas de sustento y el medio ambiente de la otra parte de la humanidad, que habita en áreas impactadas por la minería⁹

El sistema económico internacional podría ser compatible con la preservación del medio ambiente, sin embargo, el consumo de los recursos no renovables como es el caso de la MINERIA, ocasiona daños en los ecosistemas, y en la salud, que son irreversibles¹⁰.

Los impactos ambientales producidos por la actividades mineras se dividen en paisajísticos, hidrológicos, edáficos, faunísticos y florísticos¹¹ ; uno de los problemas más señalados por la sociedad a nivel mundial, que ocupa un lugar prominente en los programas sociales y políticos es la progresiva degradación de los recursos naturales causada por la gran diversidad de contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos, en la atmósfera, agua, suelo y subsuelo; considerándose la contaminación como un cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas del aire, tierra o agua.

⁸ Vlek, CH. (2000). Essential psychology for environmental policy making. International Journal of Psychology, 35(2), 153-167.

⁹http://www.ecoportal.net/Temas_Especiales/Mineria/La_Mineria_y_su_grave_impacto_sobre_los_Bosques_y_los_Pueblos consultado el 30 de marzo del 2013

¹⁰<http://medioambienteyperiodismo.blogspot.com/2008/06/impacto-ambiental-irreversible.html> consultado el 30 de marzo 2013

¹¹ Macías, F. (1993): Contaminación de suelos: algunos hechos y perspectivas. En: Ortiz Silla, R., (Ed.). Problemática Geoambiental y Desarrollo, Tomo I. 53-74. V Reunión Nacional de Geología. Ambiental y Ordenación del Territorio. Murcia



En Colombia, la mayor zona de explotación minera de oro se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar, con más de 12.400 minas en explotación que involucran un número de personas superior a 50.000 las cuales reciben influencia directa o indirecta de esta actividad¹²

La industria minera extractiva del oro produce emisiones de mercurio ó “azogue” dada la incorrecta utilización del mismo. La cantidad de mercurio liberado al ambiente en esta actividad no ha sido calculada con exactitud, pero se ha estimado en cerca de 80 a 100 toneladas al año. El manejo inadecuado de este metal ha conllevado la contaminación de suelos, sedimentos, cuerpos de agua y demás compartimientos ambientales¹³

La contaminación por mercurio se puede considerar como un impacto ambiental de carácter regional que está afectando ecosistemas sensibles y de gran importancia mundial como la Cuenca Amazónica y el Choco Biogeográfico¹⁴

Por otra parte, la toxicidad total anual de los metales movilizados por el hombre excede la toxicidad total de los residuos radiactivos y orgánicos generados cada año¹⁵. Muchas especies metálicas son conocidas por sus efectos nocivos sobre la salud, y forman parte de la lista de contaminantes ¹⁶prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. (US EPA)

Las dos mayores epidemias de intoxicación por mercurio producidas hasta el presente han sido por ingestión de aguas y productos alimenticios derivados,

¹² (Unidad de planeación minera energética, 2001).

¹³ (Olivero y Johnson, 2002).

¹⁴ C. Baird, “Environmental Chemistry”, 1-557. Editorial Freeman and Co., New York, EEUU, 1998

¹⁵ J.O. Nriagu y J.M. Pacían, Nature, 333, 134-139 (1988)



como la de la Bahía de Minamata (1953/60) y en 1965 en Niligata Japón, con 500 y 700 casos totales respectivamente y más de 60 casos fatales en cada una¹⁷.

Aproximadamente un millón de mineros utilizan mercurio para extraer oro en Latinoamérica, 450.000 en Brasil, 250.000 en Colombia, 50.000 en el Ecuador y el resto en Venezuela, Bolivia, Perú, Chile y Surinam. Pero también en países de otros continentes, por ejemplo en las Filipinas, Nueva Guinea y Ghana se emplea intensivamente la amalgamación¹⁸.

De los ambientes que se perturban por actividades mineras, uno de los más afectados resulta ser el agua. La escasez de agua además de reducir la disponibilidad para las generaciones futuras, limita el desarrollo económico y social de los estados, de las regiones y del país mismo, mientras que su contaminación afecta la integridad de los ecosistemas, reduce la biodiversidad y representa un riesgo para la salud humana, animal y vegetal¹⁹

Lo anterior expone aspectos generales de la problemática en torno a la contaminación por mercurio. A toda esta problemática planteada se agrega la dificultad a la hora de establecer alternativas viables de solución; incluso la búsqueda misma de estas alternativas presenta grandes dificultades de orden económico, logístico y político. Por tal razón se considera que si bien es cierto que la problemática de la contaminación como tal representa un grave problema la inexistencia de alternativas viables empeora el panorama.

¹⁷ Torres Leedham, Verónica M., Brando, Omar Alberto, "El mercurio y los Alimentos", Sociedad Argentina de Toxicología, N° 2, 1981. (33 - 37)

¹⁸ Pantoja. F. Mercurio y Ambiente incidencia de la minería del oro. Tesis de master Universidad Politecnica de Madrid

¹⁹ (Cabrera y Rodríguez 1997, Peters y Meybeck 2000, SEDESU 2001, 2005, Cárdenas 2002, Perrusquía 2003).



2. JUSTIFICACION

Los contaminantes en forma líquida provienen de las descargas de desechos domésticos, agrícolas e industriales en las vías acuáticas, de terrenos de alimentación de animales, de terrenos de relleno sanitario, de drenajes de minas y de fugas de fosas sépticas. La depuración de dichas aguas residuales se ha convertido en uno de los retos ecológicos y económicos más necesarios del planeta contemplada en el Protocolo de Kyoto, la EPA (Environmental Protection Agency) y la OMS (WHO, World Health Organization)²⁰

En el marco del Plan Nacional de Desarrollo 2011- 2014, el departamento del Chocó, hace parte de la “Zona Pacífico e Insular” y es considerado un territorio con ventajas comparativas naturales, tales como su “potencial de desarrollo económico a partir de recursos... mineros”, pero también coloca a la minería ilegal como uno de los riesgos altos en materia de desastres²¹

En desarrollo de la Visión 2019 “Colombia como un país Minero”, al primero de agosto de 2010, en el Chocó existían 103 títulos mineros. Hoy encontramos 1527 solicitudes mineras y 157 títulos. De mantenerse esta proporción al finalizar el 2011, en el Chocó habrían por lo menos 254²².

Adicionalmente, el departamento pasó de una producción anual entre el año 2002 al 2010 de 605,89 Kg a 16.925,3Kg de oro, de 6.986Kg a 11.538Kg de Plata,

²⁰ . Lomelí, M. G.; Tamayo, R.; Contaminación del agua. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en (Internet): <http://www.sagan-gea.org/>

²¹ Bases del Plan Nacional de Desarrollo 2010-2014. Prosperidad para todos. Más empleo, menos pobreza, más seguridad. Departamento Nacional de Planeación. 2010, página 45.

²² Tomado de [http:// www.cmc.gov.co:8080/CmcFrontEnd/consulta/index.cmc](http://www.cmc.gov.co:8080/CmcFrontEnd/consulta/index.cmc) Información al 21 de enero de 2011.



mientras la producción de platino para el mismo periodo pasó de 651,82Kg a 668,67Kg, con el pico más alto de producción 1521,04Kg en el 2007²³

De lo anterior se puede suponer las grandes extensiones de tierra y agua que hoy en día seguramente están impactadas por las actividades extractivas, no solo en el departamento, sino en el país en general. El problema no radica solamente en la extracción de oro como tal y aunque para el presente estudio solo se abordó la contaminación de efluentes por la extracción de oro con mercurio; toda la problemática en general merece atención urgente.

Los metales pesados son quizás los agentes tóxicos más conocidos desde la antigüedad, no han perdido interés, y en los últimos años se ha incrementado el conocimiento concerniente a los potenciales efectos tóxicos y mecanismos de acción de los iones metálicos, los compuestos inorgánicos y organometálicos, que constituyen parte de los productos y subproductos tecnológicos²⁴

El mercurio (Hg) genera uno de los mayores problemas ambientales actuales debido a su alta toxicidad y capacidad para bioacumularse y biomagnificarse²⁵ por lo que altera el equilibrio ecológico y genera graves problemas de salud pública. Este contaminante está relacionado con daños severos al sistema nervioso central, teratogénesis, así como con afecciones del hígado y los riñones²⁶

²³ 7 Información oficial al mes de septiembre de 2010. Fuente: Sistema de Información Minero Colombiano (SIMCO)

²⁴ Repetto, 1995; Kosnett, 2010).

²⁵ (Zheng et al., 2008),

²⁶ (Magos, 2003; Bocayuva et al., 2005; Nóvoa et al., 2008).



Los efluentes industriales se han tratado tradicionalmente mediante una combinación de procesos físico-químicos, como la floculación, precipitación y filtración y procesos biológicos como el de lodos activados²⁷

La introducción de compuestos químicos extraños al ambiente, con frecuencia puede abatir la capacidad de auto limpieza de los ecosistemas receptores y por lo tanto dar como resultado la acumulación de contaminantes, que resultan ser perjudiciales para la salud humana. Por lo anterior se hace necesario buscar métodos para acelerar la eliminación de los contaminantes ambientales y así remediar los problemas existentes y disminuir los impactos futuros

Haciendo una relación de todos los elementos implícitos en esta problemática, el tema de la contaminación minera es delicado y complejo ya que por un lado intervienen diversos aspectos ecológicos, económicos, sociales; y, por otro lado, la persistencia de la contaminación y la magnitud de las fuentes que determinan la necesidad de un tratamiento integral de la problemática que oriente alternativas de respuesta coherentes, desde una perspectiva multidisciplinaria, así como de la aplicación de tecnologías y mecanismos de prevención, mitigación y control ambiental, eficaces y adecuados al contexto local²⁸

Existen diferentes tecnologías para el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados, e.g., adsorción, cementación, precipitación, intercambio iónico, extracción con solventes y electrodiálisis²⁹. Sin embargo, generalmente son costosas e ineficientes cuando se trata de soluciones diluidas³⁰ Por lo mismo, se han desarrollado tecnologías alternativas como la biorremediación y la

²⁷ VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy. No.59, (2001), p. 203-216.

²⁸ <http://www.scielo.org.bo/pdf/rbcst/v12n27/v12n27a03.pdf> Las huellas de la investigación sobre contaminación minera en Oruro y Potosí Rita Gutiérrez Agramont . Consultado el 31 de marzo de 2013

²⁹ (Brooks 1991)

³⁰ (Dushenkov y col. 1995, Chen y col. 2001).



fitorremediación que involucra el uso de organismos vivos y sus derivados para la remoción de metales de aguas contaminadas

Entre las diferentes opciones técnicas de remediación, la fitorremediación ocupa un lugar importante porque es una tecnología emergente basada en la acción combinada de plantas (terrestres o acuáticas), dado su bajo impacto medioambiental, bajo costo, eficiencia y gran aceptabilidad entre el público para extraer los contaminantes del suelo, y disminuir o eliminar su toxicidad^{31, 32, 33}

Frente a los problemas presentados por la presencia de mercurio en las aguas contaminadas por actividades mineras para la extracción de oro, las plantas pueden ser biodetoxificadores muy eficientes de metales solubles y particulados, por esto las fitotecnologías basadas en las plantas ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación y recuperación de metales³⁴

Para el caso particular de los ambientes acuáticos, la contaminación por metales pesados es de gran importancia y peligrosidad dado que éstos se encuentran entre los compuestos de mayor toxicidad para la biota. Esta peligrosidad se debe principalmente al tiempo de residencia elevado que tienen estos contaminantes en los diferentes compartimentos –biota, columna de agua y sedimentos- de los cuerpos de agua naturales, dependiendo de las condiciones del medio su biodisponibilidad y consecuente distribución en cada uno de ellos³⁵

³¹ Prabha, K., Loretta, L. 2007. Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants.

³² Ghaderian, S., Mohtadi, A., Rahiminejad, R., Reeves, D., Baker, A. 2007. Hyperaccumulation of nickel by two Alyssum species from the serpentine soils of Iran. *Plant Soil* (293): 91-97.

³³ Malikova, I., Ustinov, T., Anoshin, G., Badmaeva, Z., Malikov, Y. 2008. Mercury in soils and plants in the area of Lake Bol'shoe Yarovoe (Altai Territory). *Russian Geology and Geophysics*, 49 (1): 46-5.

³⁴ Sepúlveda Niza 2010

³⁵ (Turner, 1992; Laws, 1993; Tölgyessy, 1993; Newman & Jagoe, 1996; Deng et al., 2004).



A partir de lo anterior se desarrolló una investigación preliminar de tipo exploratorio en la que se buscó desarrollar un modelo teórico de rizofiltración, Rizofiltración, que se define como un mecanismo de fitorremediación basado en el uso de raíces de plantas con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar metales de aguas residuales contaminadas³⁶

Al vetiver se le ha señalado como una planta que puede eliminar diversas sustancias contaminantes de las aguas, entre ellos algunos macronutrientes tales como el nitrógeno, fósforo y algunos metales pesados: Níquel, Cadmio, Plomo, Mercurio; y recientemente Flúor (Yazmin et al, 2006, el cual se midió en raíces y área foliar para tratar aguas contaminadas con este halógeno. También se menciona como planta que puede absorber algunos cationes.

En este caso se propone el uso del pasto vetiver *Vetiveria zizainoides*; especie que se convierte en una importante herramienta biológica al demostrarse a través de diversos estudios que puede remover contaminantes (metales pesados, aguas servidas, entre otros) es de bajo costo, ecológico³⁷; además por sus características morfológicas y fisiológicas se convierte en una planta casi única³⁸

El fitotratamiento es en algunos casos muy ventajoso; así, para el tratamiento de suelos contaminados con elementos tóxicos (metales como As, Cd, Crtotal, Cu, Hg (inorgánico), Pb, Zn y radionucleidos: 137Cs, 239Pu, 90Sr); este tipo de procesado presenta unos costos del orden de tres veces de magnitud menor que los que se tienen con métodos convencionales de detoxificación La rizofiltración es una de las opciones que presenta mejor relación de costo-beneficio respecto a otros métodos empleados para el tratamiento de efluentes líquidos. Además es

³⁶ (Dushenkov y col. 1995, EPA 2000, Núñez-López y col. 2004, Ghosh y Singh 2005).

³⁷ Troung, P. 1999, Introducción a la Tecnología del Pasto Vetiver. Curso Corto sobre Tecnología del Pasto Vetiver para Control de Erosión y Sedimentación, Estabilización de Laderas y Protección Ambiental. Conferencia y Exhibición Asia-Pacífico sobre Bioingeniería de la Tierra y el Agua, Abril 1999

³⁸ (Truong y Baker, 1998).



estética y naturalmente amigable con el ambiente, por lo que se presenta como una forma de descontaminación socialmente aceptable para las comunidades circundantes y para los organismos de control respectivos. La fitorremediación ofrece algunas otras ventajas y desventajas frente a los otros tipos de biorremediación³⁹:

Ventajas

Las plantas pueden ser utilizadas como bombas extractoras de bajo costo para depurar suelos y aguas contaminadas, Algunos procesos degradativos ocurren en forma más rápida con plantas que con microorganismos, Es un método apropiado para descontaminar superficies grandes o para finalizar la descontaminación de áreas restringidas en plazos largos.

Limitaciones

El proceso se limita a la profundidad de penetración de las raíces o aguas poco profundas. Lo que para este caso no representa un limitante, ya que la especie considerada posee un sistema radicular que puede alcanzar entre 3 y 5 metros de largo⁴⁰. Otras limitantes son: Los tiempos del proceso pueden ser muy prolongados. La biodisponibilidad de los compuestos o metales es un factor limitante de la captación.

³⁹ El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología

⁴⁰ Hengchaovanich, D and Nilaweera, N S (1998). An assessment of strength properties of Vetiver grass roots in relation to slope stabilization, Proc. First Int. Conf. on Vetiver, Chiang Rai, Thailand, pp 153-158



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un Protocolo para la Rizofiltración de Efluentes Contaminados con Mercurio Mediante la Aplicación de Filtros Vegetales con la Especie Vetiver (Vetiveria Zizainodes)

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Estudiar la técnica de rizofiltración como una biotecnología potencial para el tratamiento de efluentes contaminados con mercurio

Analizar el potencial del pasto vetiver (*V. zizainoides*), en sistemas de fitodepuración.

Realizar un ensayo eco toxicológico con el pasto vetiver (*V. zizainoides*), apoyado en test biológicos y el valor pH.



4. MARCO TEORICO

4. 1 ANTECEDENTES GENERALES

La evolución del ser humano y el desarrollo de las civilizaciones han estado íntimamente ligados a la utilización de los recursos minerales. Tan marcada ha sido su influencia que se ha recurrido a ellos para marcar los grandes periodos de la Prehistoria; tradicionalmente ésta se ha dividido en Edad de Piedra (Paleolítico, Mesolítico y Neolítico) y Edad de los Metales (Calcolítico o Edad del Cobre, Edad del Bronce y Edad del Hierro). El sílex (la piedra), el cobre, el bronce (obtenido a partir de minerales de cobre y estaño) y el hierro fueron, pues, los primeros recursos minerales emblemáticos utilizados por el hombre. A estos se fueron incorporando otros muchos, como el oro, la plata, el plomo, el mercurio, los mármoles y demás piedras ornamentales y de construcción, o las arcillas para la fabricación de piezas de adobe o ladrillos⁴¹

A través de la historia y especialmente desde la Revolución Industrial, los hombres han producido contaminantes muy peligrosos, los cuales han sido gradualmente depositados en el ambiente. Granadillo, expresó que los altos niveles de metales tóxicos no biodegradables, encontrados en sectores urbanos, son el resultado de una actividad antropogénica indiscriminada⁴².

La contaminación es un cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas del aire, tierra o agua que pueden afectar nocivamente al medio ambiente⁴³.

⁴¹<http://161.116.7.34/conferencias/viiiicienciestera/MINER%C3%8DA%20Y%20DESARROLLO%20SOSTENIBL%20E.pdf> consultado el 31 de marzo del 2013

⁴², V. 1993. Concentraciones de Plomo en Sangre de la Población de la Ciudad de Maracaibo. Universidad de Zulia, Maracaibo, Venezuela, p.1- 110.

⁴³ Atilio De La Orden, 2008



Se consideran metales pesados el plomo cadmio, cromo, mercurio, zinc, cobre, plata y arsénico, constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales⁴⁴. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, Tl⁴⁵

En un breve análisis del grado de conocimiento y aplicación de tecnologías y medidas adecuadas de prevención y mitigación de la contaminación, se observa que la naturaleza y magnitud de los impactos ambientales del sector minero en el pasado fueron variando de acuerdo a las características económicas y sociales de las unidades operativas mineras, y en relación con el avance tecnológico de los métodos de producción y los sistemas de prevención, protección y control de la salud, seguridad industrial y manejo ambiental⁴⁶.

El concepto de usar plantas para limpiar suelos contaminados no es nuevo, desde hace 300 años las plantas fueron propuestas para el uso en el tratamiento de aguas residuales. En Rusia en los años sesentas se realizaron investigaciones utilizando plantas para recuperar suelos contaminados con radionucleótidos. Existen reportes sobre el empleo de plantas acuáticas en aguas contaminadas con plomo, cobre, cadmio, hierro y mercurio. La remediación de la acumulación de metales pesados en suelos utilizando plantas es también ampliamente reconocida⁴⁷

⁴⁴ Spain, A. 2003. Implications Of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. Reviews In Undergraduate Research, 2,1-6.

⁴⁵ García, I., Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>

⁴⁶ Velasco, Mario
2009 "Documento de revisión y evaluación del PIA-PIEB- Sector Minero". Diagnóstico de situación y temas prioritarios de investigación en Oruro y Potosí.

⁴⁷ Ernst, W. H. O. 2000. Evolution of Metal Hyperaccumulation and Phytoremediation. New Phytol 146, 357-357



La fitorremediación es el uso de plantas para recuperar suelos contaminados, es una tecnología in situ no destructiva y de bajo costo y está basada en la estimulación de microorganismos degradadores⁴⁸. Consiste en el uso de plantas, sus microorganismos o enzimas asociadas, así como de la aplicación de técnicas agronómicas para degradar, retener o reducir a niveles inofensivos los contaminantes ambientales a través de procesos que logran recuperar la matriz o estabilizar al contaminante. Dentro de las técnicas de restauración de suelos afectados por la contaminación, la fitorremediación ha adquirido auge por ser un procedimiento pasivo, estéticamente agradable, útil para remediar simultáneamente una gran variedad de contaminantes⁴⁹.

En estudios recientes se ha demostrado que la fitorremediación es una solución prometedora para la limpieza de sitios contaminados por una variedad de metales, aunque también tiene una serie de limitaciones⁵⁰, además, es un proceso de descontaminación que involucra el empleo de plantas que pueden remover, transferir, estabilizar, descomponer y/o degradar contaminantes de suelo, sedimentos y agua, como solventes, plaguicidas, hidrocarburos poliaromáticos, metales pesados, explosivos, elementos radiactivos, fertilizantes, para hacerlos más biodisponibles para la planta⁵¹. La fitorremediación aplicada a suelos contaminados con elementos o compuestos inorgánicos, incluye, básicamente,

⁴⁸ Merkl, N. R, Schultze-Kraft y C. Infante. 2004. Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soils in the Tropics - Pre-Selection of Plant Species from Eastern Venezuela. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 78 (3):185-192

⁴⁹ Frick, C. M., R. E. Farrell y J. J. Germida. 1999. Assessment of Phytoremediation as an in situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. *Petroleum Technology Alliance of Canada*. Vancouver, British Columbia.

⁵⁰ Singh, O.V., S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja y R.K. Jain. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination From Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61: 405-412.

⁵¹ McGrath, S. P, Lombi, E., Zhao, F. J., y Dunham, S. J. 2001. Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation Versus Chemically Enhanced Phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* 30 (6): 1919-1926.



tres mecanismos: la fitoextracción o fitoacumulación, la fitoestabilización y la fitovolatilización,⁵²

Actualmente existen estudios tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua.

Esta novedosa tecnología tiene como objetivo degradar y/o asimilar, los metales pesados, presentes en el suelo, lo cual tiene muchas ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos de lugares contaminados; en primer lugar es una tecnología económica, de bajo costo, en segundo lugar posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y en tercer lugar su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal⁵³. La biodisponibilidad, capacidad que posee un compuesto químico o un elemento mineral de penetrar activa o pasivamente en un sistema vivo (célula, órgano u organismo), determina la posibilidad de que dicho compuesto o elemento alcance un blanco biológico determinado, sea éste de interés fisiológico o toxicológico⁵⁴ Este concepto de biodisponibilidad está relacionado estrechamente con el de “especiación” de un elemento, lo cual hace referencia a las diferentes formas fisico-químicas en que el mismo pueda hallarse distribuido o particionado en el medio⁵⁵

⁵² Prasad, M. N. V. y H. M. Freitas. 2003. Metal Hyperaccumulation In Plants Biodiversity Prospecting For Phytoremediation Technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3). 285– 321.

⁵³ Harvey, P. J, Campanella B. F, Castro P. M. L, Harms H, Lichtfouse E, Schäffner A. R, Smrcek, S. and Werck-Reichhart D. 2002. Phytoremediation of Polyaromatic Hydrocarbons, Anilines and Phenols. *Environmental Science and Pollution Research* 9, 29-47.

⁵⁴ (Turner, 1992; Tölgyessy, 1993; Newman & Jagoe, 1996; Bories, 1997).

⁵⁵ (Turner, 1992; Manahan, 2007).



4.1.1 Contaminación Ambiental

La contaminación se define como la presencia de concentraciones elevadas por encima de valores concretos, de ciertas sustancias, sedimentos u organismos en el agua o en la atmosfera. Para fines prácticos, en este trabajo, se utilizó la palabra contaminación para referirnos a cualquier cambio en la calidad natural del agua causada por factores químicos ya sean de origen natural o antropogénicas.

La contaminación ambiental se clasifica según el medio en donde se la encuentre, o sea, el suelo (Litosfera), el aire (Atmósfera) o el Agua (Hidrosfera) que son las de intereses. Toda actividad altamente organizada y en particular la humana, tiende a modificar el medio ambiente (ME). Esto no es alarmante ya que él ME tiene los medios para dispersar, reducir o eliminar la contaminación, pero cuando este límite es superado se convierte en un verdadero problema ya que se pone en peligro la estabilidad del mismo y de los seres vivos que en él se encuentre.⁵⁶

4.1.1.1 Contaminación por Metales Pesados

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental, la cantidad de metales disponibles en el suelo está en función del pH, el contenido de arcillas, contenido de materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico y otras propiedades que las hacen únicas en términos de manejo de la contaminación⁵⁷.

⁵⁶ La contaminación ambiental <http://leorodriguez.lacoctelera.net/categoria/que-significa-contaminacion-ambiental>

⁵⁷ Sauve, S., Henderson, W. and Allen, H.E. 2000. Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. Environmental Science Technology, 34:1125–1131.



Además son definidos como elementos con propiedades metálicas (conductibilidad, ductilidad, etc.), número atómico mayor de 20, y cuya densidad es mayor a los 5 g cm³. Se consideran metales pesados el plomo, cadmio, cromo, **mercurio**, zinc, cobre, plata y arsénico, constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales.⁵⁸

Estos contaminantes pueden alcanzar niveles de concentración que generan efectos negativos en el suelo, así mismo en las propiedades físicas, químicas y biológicas como: reducción del contenido de materia orgánica, disminución de nutrientes, variación del pH generando suelos ácidos, amplias fluctuaciones en la temperatura, efectos adversos en el número, diversidad y actividad en los microorganismos de la rizósfera, dificultan el crecimiento de una cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, erosión del suelo, y la dispersión de los contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes y como consecuencia aumenta la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, afectando su desarrollo⁵⁹.

Las principales fuentes de metales pesados son las actividades naturales, como desgastes de cerros, volcanes, que constituyen una fuente relevante de los metales pesados en el suelo, así como también actividades antropogénicas como **la industria minera que está catalogada como una de las actividades industriales más generadora de metales pesados.**

⁵⁸ García, I. and Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es>.

⁵⁹ Zhang, Q, Davis, L. C., y Erick, L. E. 2000. Heavy Metal. In: Hazardous Substance Res. 2 (4):1



En el suelo, los metales pesados, están presentes como iones libres, compuestos metálicos solubles, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos.⁶⁰

Dentro de los metales pesados hay dos grupos; oligoelementos o micronutrientes: son los requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza por plantas y animales y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, Tl. En general, el orden de acumulación de metales pesados en la red trófica es como Sigue: capa biológica=sedimentos>invertebrados>peces.⁶¹

4.1.1.2 El Mercurio (Hg)

El mercurio es un metal pesado que fácilmente se vaporiza.⁶² cuando aumenta su temperatura-por encima del los 40 °C – produciendo vapores tóxicos y corrosivos, más pesados que el aire razón por la cual este se evapora, creando miles de partículas en vapor que se enfrían y caen al suelo, puede ser transportado a grandes distancias una vez que se ha emitido a la atmósfera y existe en tres formas básicas según el estado de valencia en que se puede presentar y los compuestos que puede formar con otros elementos: Mercurio elemental, inorgánico y orgánico. Estas formas difieren en sus características biológicas y

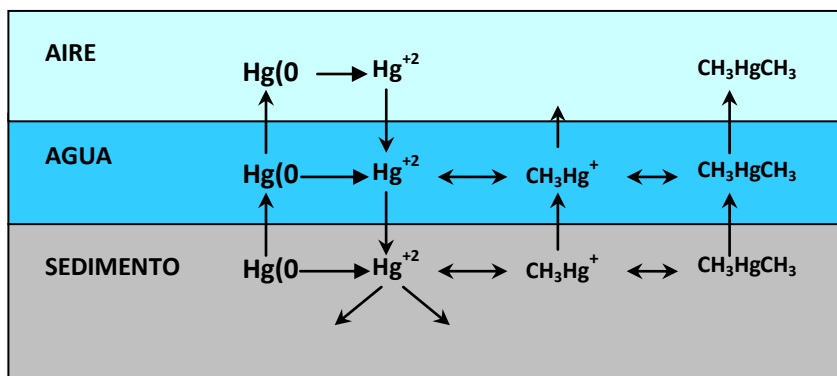
⁶⁰ Pineda, H. R. 2004. Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares y Contribución de *Glomus Intraradices* en la Absorción y Translocación de Cinc y Cobre en Girasol (*Helianthus Annuus L.*) Crecido en un Suelo Contaminado con Residuos de Mina. Tesis para Obtener el Grado de Doctor en Ciencias Universidad de Colima. Tecoman, Colima.

⁶¹ Deacon, JR; Driver, NE. 1999. "Distribution of trace elements in streambed Sediment associated with mining activities in the upper Colorado River Basin, Colorado, USA,1995-96. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37: 7-18

⁶² Gerath et al., 1995)



toxicológicas. Su peligro inminente radica en la forma en que su ciclo global puede alterarse debido a otras emisiones producidas por el hombre⁶³.



La figura 1 presenta de manera resumida el ciclo del mercurio y la forma como ocurre intercambio de especies mercuriales de acuerdo al medio en que se encuentran (aire, agua, suelo).

4.1.1.3 Importancia del Metilmercurio

El metilmercurio, debido a su alta solubilidad en lípidos, se distribuye a través de todo el organismo, debido a su facilidad para atravesar todas las membranas. Los niveles en la sangre se equilibran con los niveles en los tejidos, por lo que la sangre es un buen indicador clínico. Cerca del 90% de todo el metilmercurio presente en la sangre, se encuentra en los glóbulos rojos, también se concentra en el hígado, el riñón, el cerebro, el cabello y la epidermis⁶⁴.

⁶³ Ramos Cx, Estévez SI, Giraldo E. Nivel de contaminación por metilmercurio en la región de la Mojana. http://www.hruschka.com/hg-net/members/claudia/metilmercurio_en_la_mojana.doc. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIA), Universidad de Los Andes; 2000

⁶⁴ Claudia X. Ramos, Sandra L. Estévez, Eugenio Giraldo. Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000.



4.1.1.4 El Metilmercurio y la Cadena Alimenticia.

El metilmercurio está en los sedimentos de los océanos, ríos y lagos. El metilmercurio es producido por las bacterias metanogénicas. Cuando el mercurio es metilado por la ingestión de los microorganismos, un átomo de carbono es adicionado al átomo de mercurio, este átomo adicional cambia las propiedades del mercurio consiguiendo ser fácilmente acumulado en peces. Una vez liberado por los microorganismos, el metilmercurio rápidamente se difunde y es vinculado a las proteínas en la biota acuática, de aquí éste marcha hacia la cima de la cadena alimenticia en un proceso llamado:

- **Biomagnificación.** Los peces más pequeños adsorben el metilmercurio del agua que pasa por sus agallas y de la flora y fauna contaminada con la que se alimenta. Luego estos peces son comidos por otros peces más grandes, razón por la cual se encuentran concentraciones más altas en peces a lo más alto de la cadena alimenticia acuática.
- **Bioacumulación,** proceso por el cual los organismos vivos, incluyendo a los seres humanos, absorben contaminantes más rápidamente de lo que sus cuerpos pueden eliminar, por lo que el contaminante se acumula todo el tiempo⁶⁵.

4.1.1.5 Toxicidad del metilmercurio.

El metilmercurio en humanos ataca principalmente el sistema nervioso y el cerebro. Investigaciones muestran que el cerebro de un feto es 5 a 10 veces más sensible al metilmercurio que el cerebro de un adulto debido a las interferencias

⁶⁵ Estado Del Conocimiento De Las Concentraciones De Mercurio Y Otros Metales Pesados En Peces Dulceacuícolas De Colombia. Néstor Javier Mancera-Rodríguez, Ricardo Álvarez-León. Departamento de Producción Animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Fundación GeoSur. Bogotá, Colombia_Presentado agosto 22 de 2005, aceptado octubre 24 de 2005, correcciones enero 27 de 2006



químicas con la división y migración de células que se forman en el cerebro y la destrucción de algunas de éstas. El Metilmercurio llega al feto desde la madre a través de la placenta y puede causar daños al feto sin causar síntomas en la progenitora. Uno de los graves problemas es que los síntomas pueden tardar semanas o hasta meses en aparecer después de la exposición al metal. Es importante recalcar que el cuerpo humano libera la mitad de su Metilmercurio en 70 días y continúa disminuyendo la mitad del Metilmercurio cada 2 meses hasta ser eliminado por completo, esto ocurre si no se sigue ingiriendo del compuesto, de lo contrario los tiempos de eliminación serán mucho mayores⁶⁶.

4.1.1.6 Tragedias Históricas Relacionadas con Metilmercurio

El mercurio ha sido utilizado en minería por más de 2300 años. En Inglaterra en los 1800's, el mercurio fue usado para conservar y preservar el brillo de los sombreros de piel de castor. Los empleados de la industria de sombreros desarrollaron con frecuencia síntomas de demencia. Esto fue atribuido al mercurio elemental volatilizado inhalado. En Japón ocurrió envenenamiento por mercurio cuando la Chisso Corporation, empresa de fertilizantes, petroquímicos y plásticos vertió 27 toneladas de compuestos de mercurio en la Bahía y el río de Minamata desde 1932 a 1968⁶⁷. Este se movió a través de la cadena alimenticia y fue consumido por los aldeanos en pescados tomados de la Bahía. Miles de personas fueron afectadas entre 1953 y 1973 (20 años después) por lo que se llamó el "Minamata Disease". En Iraq, entre 1971 y 1972 cientos de personas murieron y

⁶⁶ Claudia X. Ramos, Sandra L. Estévez, Eugenio Giraldo. Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000.

⁶⁷Ramos Cx, Estévez Sl, Giraldo E. Nivel de contaminación por metilmercurio en la región de la Mojana. http://www.hruschka.com/hg-net/members/claudia/metilmercurio_en_la_mojana.doc. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA), Universidad de Los Andes; 2000



muchos fueron hospitalizados después de comer un pan hecho con 90.000 ton. de semillas de trigo importado que estaba previsto para plantar y había sido tratado con fungicida de alquimercurio. Las bolsas de las semillas fueron etiquetadas para no ser comidas pero la advertencia fue hecha en español. El pan contenía en promedio 7.9 ppm de Metilmercurio⁶⁸.

4.1.1.7 Ciclo Biogeoquímico del Mercurio

El ciclo biogeoquímico del mercurio sigue una dinámica cíclica, la cual se ve influenciada por las actividades antropogénicas. Este ciclo es continuo entre la atmósfera, la tierra y el agua, se caracteriza por la gran movilidad que presenta el mercurio entre los diferentes compartimentos ambientales. Esto es debido a la inestabilidad del mercurio el medio ambiente⁶⁹

En el ambiente existen dos ciclos implicados en el transporte y distribución del mercurio. Un ambiente global donde la circulación atmosférica mueve el vapor de mercurio elemental (Hg₀) de las fuentes terrestres a los océanos. otro ambiente local y depende de la metilación del mercurio inorgánico principalmente de las fuentes antropogénicas. Los pasos en este ciclo aún no se conocen muy bien, pero probablemente la acción bacteriana está involucrada en la formación y liberación de metilmercurio a la atmosfera Por lo tanto, los niveles medioambientales de metilmercurio dependen de un balance entre los procesos de metilación y desmetilación bacteriana⁷⁰

⁶⁸ Nivel de Contaminación Por Metilmercurio. www.hruschka.com/.../metilmercurio_en_la_moja 31 de marzo de 2013

⁶⁹ Carrasco, S. & Millán, R. 2008. Influencia de la adición de fertilizantes y enmendantes orgánicos en suelos contaminados por mercurio. Informes técnicos del CIEMAT. N° 1153

⁷⁰ Boening, 2000



El mercurio en forma de mineral de cinabrio es escasamente atacado por los agentes atmosféricos (O_2 , CO_2 y H_2O) y no accede al ciclo del agua. De este modo, la transmisión de este elemento a la cadena trófica es muy reducida por esta vía. Por el contrario, la principal incorporación del mercurio a las cadenas tróficas se produce a través del mercurio (metal), debido a que es volátil a temperatura ambiente, incorporándose a la atmósfera en forma vapor (Hg^0). Una vez en la atmósfera el vapor de mercurio sufre procesos de oxidación transformándose en Hg^{2+} ⁷¹.

El comportamiento del mercurio que se encuentra en los suelos está determinado por procesos físicos y químicos, responsables de la redistribución del elemento en el suelo. Una vez que el mercurio está disuelto en el suelo, predominan las reacciones de adsorción desorción. A continuación el mercurio puede volatilizarse o transformarse biológica o químicamente ⁷².

La temperatura es un factor fundamental para la volatilización del mercurio. Parte de este mercurio volverá al medio terrestre a través de procesos de deposición seca o húmeda. La deposición seca, es proporcional a los niveles de mercurio en el suelo y la concentración en el aire, mientras que, la deposición húmeda, es proporcional a los porcentajes de emisión química ⁷³

Por otro lado, mediante procesos de erosión o lixiviación, el mercurio puede pasar del suelo al agua de los ríos, y del agua y sedimentos al compartimento biótico fluvial mediante procesos de extracción y Bioacumulación. En los medios acuáticos el mercurio se encuentra en concentraciones muy bajas, en forma de coloides, partículas minerales o fases disueltas. Las fases disueltas pueden ser

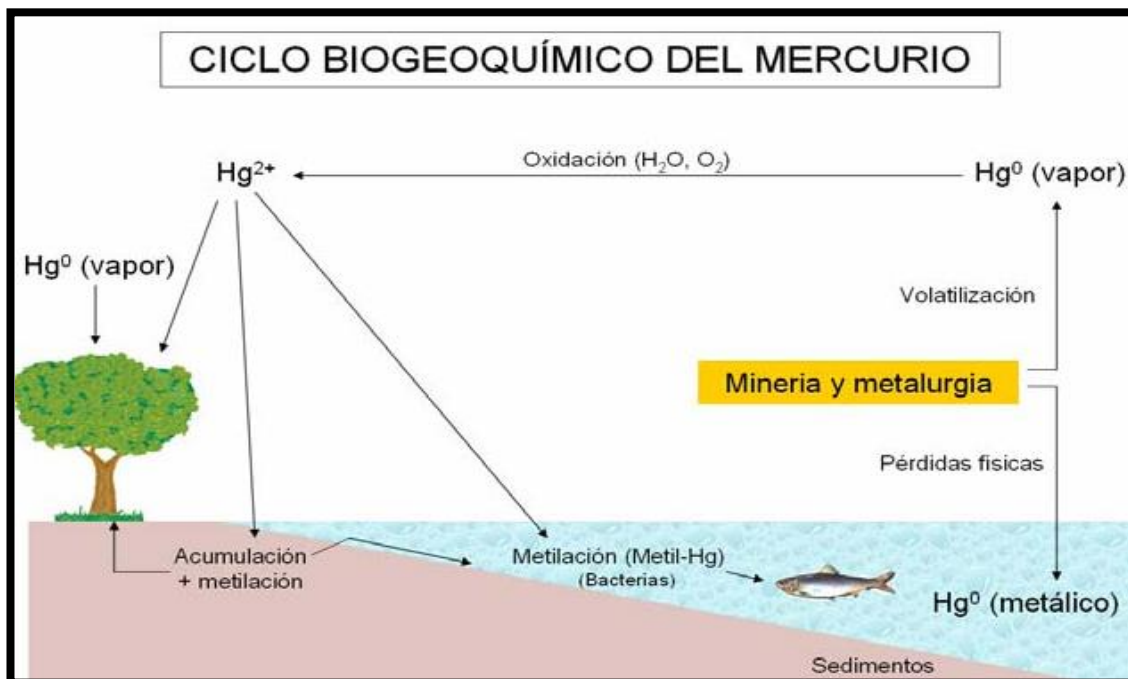
⁷¹ Boening, D.W. 2000. Ecological effects, transport and fate of Mercury: A general review. Chemosphere, 40: 1335-1351

⁷² Siegel, S.M. Y Siegel, B.Z. (1998). Water, Air and Soil Pollution, 40: 443-448

⁷³ Gerath et al., 1995 .



atrapadas por sorción en arcillas o hidróxidos. Por otro lado, los compuestos orgánicos presentan gran capacidad de captura de cationes metálicos de



mercurio, formando especies tóxicas como es el metilmercurio⁷⁴

Figura 2. Ciclo Biogeoquímico del Mercurio. Fuente⁷⁵:

4.1.1.8 Umbrales De Tolerancia Del Vetiver Al Mercurio

Existen distintos tipos de ensayos de toxicidad. Según (Tortorelli *et al.* (1994), sus diferencias principales se centran en las concentraciones de tóxico empleadas y en la longitud de exposición a él. Los ensayos de toxicidad en el medio acuático, según el tiempo de exposición al tóxico, pueden clasificarse en agudos, subcrónicos, crónicos, reproductivos y de recuperación.

⁷⁴ (Carrasco & Millán, 2008)

⁷⁵ http://www.ucm.es/info/crismine/HTML_Almaden/Almadencontaminaciónarchivos/image016-jpg



4.1.1.9 Propiedades del Cloruro de Mercurio

El cloruro mercúrico, HgCl_2 , es corrosivo, muy venenoso y peligroso por su gran solubilidad en agua, alcohol, éter y glicerina.

4.1.2 TRATAMIENTO DE RESIDUOS Y EMISIONES CONTAMINADOS CON MERCURIO⁷⁶

4.1.2.1 Tratamiento de Gases Contaminados con Mercurio

Para la eliminación segura del mercurio de las diferentes corrientes gaseosas se utilizan fundamentalmente tres tipos de tratamiento: **Adsorción** sobre carbón activado recubierto con azufre o yodo, **reacción** con calomel y **lavado** con solución oxidante. Otros tratamientos posibles para la reducción de mercurio en la corriente de hidrógeno emplean otros reactivos.

4.1.2.2 Tratamiento de Efluentes Contaminados con Mercurio⁷⁷

Los efluentes contaminados con mercurio pueden ser tratados por infinidad de técnicas: **Físicos** (sedimentación), **Fisicoquímicos** (coagulación-floculación, adsorción, etc.) y **Químicos** (oxidación-reducción, precipitación, etc.). La correcta selección dependerá de varios factores, principalmente la especiación del elemento además de la presencia de otros agentes, del pH, etc.

Existen otros procesos de tratamiento de efluentes contaminados con mercurio que han demostrado buenos resultados aunque varios de ellos recién se encuentran en fase experimental. Algunos procesos son: **separación por membranas** (ultrafiltración, ósmosis inversa, etc.), **tratamientos biológicos**

⁷⁶ <http://www.ccbasilea-crestocolmo.org.uy/wp-content/uploads/2011/01/Guia-ESM-Cloro-Alcali1.pdf>

⁷⁷ Fuente: USEPA 1997



(microorganismos capaces de absorber mercurio o reducirlo), extracción con membrana líquida en emulsión, etc

4.1.2.3 Tratamiento de Residuos Sólidos Contaminados con Mercurio⁷⁸.

Los tratamientos de residuos sólidos contaminados con mercurio han sido clasificados en cuatro categorías:

- a) Tratamientos térmicos (retortado, cocción, etc.)
- b) Solidificación / Estabilización (incluyendo amalgamación).
- c) Vitrificación.
- d) Lavado / Extracción ácida

Los procesos de solidificación / estabilización son los más difundidos, en un abordaje de gestión ambientalmente segura, se le dará prioridad a los tratamientos térmicos ya que estos posibilitan la recuperación del mercurio, retirándolos del ciclo de los residuos y permitiendo su envío a almacenamiento a largo plazo.

⁷⁸ Fuente: USEPA 2007



4.2 BIOTECNOLOGÍA

Alguna de las definiciones se cita a continuación:

(OECD) Organization for Economic Cooperation and Development. La Organización para la Cooperación y el desarrollo Económico: la aplicación de los principios de la ciencia y la ingeniería al tratamiento de métodos por agentes biológicos en la producción de bienes y servicios (1982)

(OTA) Office of Technology Assesnent . Oficina de Evaluacion Tecnológica. Biotecnología en un sentido amplio, incluye cualquier técnica que utiliza organismos vivos (o parte de ellos) para obtener o modificar productos, mejorar plantas y animales o desarrollar microorganismos para usos específicos (1984)

(EFB) European Federation of Biotechnology. Federacion Europea de Biotecnología: U so integrado de la bioquímica, la microbiología y la ingeniería genética para poder aplicar las capacidades de microorganismos, células cultivadas, animales o vegetales o parte de las mismas en la industria, en la salud y los procesos relacionados con el medio ambiente (1988)

E. H Houwink: el uso controlado de información biológica **(1989)**

(BIO) Biotechnology Industry Organization. Organización de la Industria Biotecnológica: En un sentido amplio biotecnología “bio” + “tecnología” es decir el usos de procesos biológicos para resolver problemas o hacer productos útiles (2003)



4.2.1 Biotecnología Ambiental

La Biotecnología Ambiental juega un papel relevante en la protección del medio ambiente. Como se ha señalado, una adecuada estrategia de preservación ambiental requiere de un enfoque multidisciplinario. La biotecnología, dentro de este enfoque, representa una respuesta adecuada en muchos casos. La biotecnología ambiental se refiere a la aplicación de procesos biológicos modernos para la protección y restauración de la calidad del ambiente. Es decir, la biotecnología ambiental ha surgido como una respuesta para la solución a muchos de los problemas de contaminación actual. Hablando de modo genérico, esta disciplina científica-aplicada puede ser empleada para evaluar el estado de los ecosistemas, transformar contaminantes en sustancias no tóxicas, generar materiales biodegradables a partir de recursos renovables y desarrollar procesos de manufactura y manejar desechos de una forma ambientalmente segura.

La Biotecnología Ambiental⁷⁹ se encarga de la aplicación de procesos biológicos modernos para la protección y restauración de la calidad del ambiente, lo que se pretende con esta es limpiar la contaminación en diferentes compartimientos terrestres a partir de la utilización de microorganismos en diversos sectores como lo son:

4.2.1.1 En la Industria:

Las levaduras: Utilizadas desde hace miles de años para la fabricación de pan y bebidas alcohólicas. La levadura que sin duda fué la primera y aún hoy en día sigue siendo la más utilizada por el hombre es *saccharomyces cerevisiae* de la que se emplean diferentes cepas para la fabricación de cerveza, vino, sake, pan y alcoholes industriales.

⁷⁹ <http://biotecmia.blogspot.com/> Publicado por Julian Cardona-Staff en 13:46



Los hongos filamentosos: Los hongos son responsables de la degradación de gran parte de la materia orgánica de la tierra, una actividad enormemente beneficiosa ya que permite el reciclaje de la materia viva.

Bacterias: Entre las especies bacterianas de interés industrial están las bacterias del ácido acético, gluconobacter y acetobacter que pueden convertir el etanol en ácido acético. El género bacillus es productor de antibióticos (gramicidina, bacitracina, polimixina), proteasas e insecticidas.

4.2.1.2 En la Agricultura

En las granjas los cultivadores reconocen el papel que desempeñan los microorganismos del suelo como formadores de humus y fijadores de nitrógeno.

Actualmente se utilizan también como control biológico.

Empleo de plantas modificadas genéticamente para la absorción de sustancias tóxicas. Todo esto con el fin de una producción con menos impacto ambiental, limpiar el agua, recuperar los suelos y purificar el aire por medio de técnicas como la biorremediación, la biolixiviación, el compostaje entre otras.



4.3 Ensayos de Fitotoxicidad

Selye (1936) desarrolló el concepto general de estrés para organismos vivos, que puede ser resumido en los 2 conceptos siguientes:

- “Todos los agentes pueden actuar como estresantes, produciendo estrés y una acción específica” y
- “Existen respuestas específicas y respuestas generales no específicas para cada estrés”.
- Levitt (1980) definió estrés como: “Cualquier factor ambiental potencialmente desfavorable para los organismos vivos”.

A partir del punto de vista botánico, él describió estrés como “un estado en el cual las demandas crecientes sobre una planta tienden a una desestabilización inicial de las funciones, seguido por una normalización y resistencia mejorada” y también “Si se exceden los límites de tolerancia y la capacidad de adaptación se satura, el resultado puede ser un daño permanente e incluso la muerte”. Larcher (1987) manifestó que “el estrés contiene elementos destructivos y constructivos y que es un factor de selección como así también una fuerza conductora para mejorar la resistencia y evolución adaptativa.”

Se realizaron ensayos de toxicidad con el propósito **de probar la resistencia y tolerancia del vetiver a diferentes concentraciones de cloruro de mercurio**. Los bioensayos de toxicidad son una herramienta de uso regular en los países desarrollados para evaluar la calidad de los residuos líquidos respecto al riesgo que implican para la biota que reside en los cuerpos receptores de los efluentes.

Esta técnica, avalada por las instituciones que velan por la protección del ambiente como la Agencia de Protección del Ambiente de los Estados Unidos (US-EPA) o aquellas que estipulan métodos de estudio de la contaminación ambiental en la Comunidad o Unión Europea (UE), tiene la ventaja de evaluar en forma integrada la eco-toxicidad del conjunto de constituyentes con propiedades tóxicas de una muestra y las interacciones entre ellos



4.3.1 Las diferentes fases inducidas por el estrés

Tomando en cuenta los resultados de Stocker (1932, 1956), se deben diferenciar tres fases en las respuestas de las plantas al estrés, a las cuales ha sido agregada una cuarta respuesta por Lichtenthaler (1988). Antes de la exposición al estrés las plantas se encuentran en una situación fisiológica estándar, la cual es un óptimo dentro del conjunto de límites impuestos por las condiciones de crecimiento, luz y aporte de minerales del lugar. Los agentes estresantes o eventos complejos de estrés tenderán a las tres fases de respuesta y, por último, a la fase de regeneración, luego de quitar el agente de estrés, si el daño no ha sido demasiado severo⁸⁰. Las siguientes son las cuatro fases consecutivas según Lichtenthaler 1988

1. Fase de respuesta: reacción de alarma (Al principio del estrés)

- Desviación de la norma funcional
- Disminución de la vitalidad
- Los procesos catabólicos exceden el anabolismo

2. Fase de restitución: estado de resistencia (Continúa el estrés)

- Proceso de adaptación
- Proceso de reparación
- Rustificación (reactivación)

3. Fase final: estado de agotamiento (estrés a largo plazo)

- Intensidad del estrés demasiado alta
- Sobrecarga de la capacidad de adaptación
- Enfermedad crónica o muerte

4. **Fase de regeneración:** regeneración parcial o completa de la función fisiológica cuando el agente estresante desaparece y el daño no fue demasiado grave

⁸⁰ María Dina García, cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. 1998. ESTRÉS VEGETAL



4.3.1.2 Pruebas de Ecotoxicidad y Estrés al cloruro de mercurio:

La ecotoxicología estudia el destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y prever los riesgos probables.

- **La Ecotoxicología prospectiva** evalúa la toxicidad de las sustancias antes de su producción y uso.
- **La Ecotoxicología retrospectiva** se ocupa de confirmar si la sustancia produce daños en el ecosistema.

El efecto causado por un tóxico dependerá de su toxicidad inherente (capacidad de causar algún efecto nocivo sobre un organismo vivo), del grado de exposición, que a su vez dependerá de la cantidad que ingrese, de cuánto pase a los distintos compartimientos del ecosistema y de su persistencia.

La ecotoxicidad es la resultante de todos los estrés tóxicos que actúan sobre el ambiente. El principio de la ecotoxicología es que los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental, puesto que ellos son los que están expuestos a los efectos combinados de la ecotoxicidad. El uso de los métodos de evaluación biológica para detectar compuestos potencialmente dañinos comenzó a desarrollarse en los años '70.

Múltiples estrategias de observación y de experimentación se usaron para evaluar la respuesta al estrés químico. Las técnicas de efectos biológicos cubren todo el espectro de la actividad biológica y organización, desde la molécula hasta la comunidad.

Se realizan ensayos de toxicidad, principalmente en laboratorio, con organismos de una especie (uniespecíficos), de varias especies (multiespecíficos) o simulando microecosistemas (multitróficos). En general, se testean las sustancias tóxicas para determinar qué tan perjudiciales son y qué riesgo poseen para el ambiente.



Los resultados de los ensayos se interpretan para definir efectos letales, **subletales y crónicos de tales sustancias, y su tendencia a acumularse en tejidos vivos**. El aumento de la resistencia a sustancias tóxicas por parte de los organismos (por adaptación evolutiva, fisiológica o cambios en el comportamiento) es uno de los factores que puede incidir en la dificultad para extrapolar al ambiente los resultados obtenidos en ensayos de laboratorio.

Por otra parte, **se estudian una variedad de propiedades ecológicas estructurales y funcionales (bioindicadores) a distintos niveles de organización para caracterizar la respuesta a la contaminación química**. La complejidad de los sistemas biológicos y su habilidad para compensar perturbaciones complica la interpretación de muchas técnicas basadas en efectos biológicos.

Las ecotoxinas son sustancias producidas por la actividad humana y especialmente la actividad industrial, que al ser emitidas al ambiente provocan un riesgo potencial o un daño dentro del ecosistema. Pueden tener un efecto dañino inmediato (letal) o mediato (crónico) en las especies que habitan ese medio.

Residuos industriales en determinadas concentraciones o vestigios en un río (contaminación industrial) determinan una selectividad de las especies que lo pueblan con resistencias variables frente a esas sustancias, originándose una perturbación en el equilibrio del ecosistema.

Los ensayos de toxicidad son los bio ensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa.

Estos ensayos, básicamente, consisten en la exposición de grupos de organismos, a determinadas concentraciones del tóxico por un tiempo determinado. Los organismos deben estar en buenas condiciones de salud, previamente



aclimatados a las condiciones del ensayo, y se mantienen en condiciones ambientales constantes. Además se dispone de grupos de control (que no se exponen al tóxico). Luego se miden y registran los efectos biológicos observados en cada uno de los grupos control y tratados y, posteriormente, se efectúa un análisis estadístico de los datos obtenidos .

Los efectos tóxicos a evaluar pueden ser: **mortalidad, inmovilidad, inhibición del crecimiento de la población, alteración del comportamiento, etc.** Se determinan distintas variables como, por ejemplo, la concentración letal 50 (CL 50), que es la concentración letal para el 50 % de los individuos expuestos. Las condiciones de los cultivos y los ensayos deben estar altamente estandarizadas para permitir la comparación de los resultados.

Los ensayos de toxicidad permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo tóxico. Es útil para la investigación básica del fenómeno de toxicidad, establecer criterios o patrones de calidad de aguas superficiales o efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico y el monitoreo de las condiciones de un cuerpo de agua.

Generalmente, no es suficiente para proteger la biota registrar en un ecosistema dado las concentraciones de las sustancias químicas; los programas para monitorear tales sustancias suelen ser muy caros, y aquellas de alta toxicidad generalmente deben detectarse en concentraciones muy bajas, usando equipo costoso y personal muy entrenado; y en un solo ambiente puede haber cientos de contaminantes con efectos muchas veces no aditivos. Por lo tanto, se necesitan los ensayos biológicos que son relativamente simples, rápidos y económicos, y pueden brindar información adicional sobre el riesgo potencial, incluyendo efectos



tóxicos como generación de cáncer, malformaciones, desórdenes de conducta, efectos acumulativos, antagonismos y sinergismos.

Los ensayos pueden ser de laboratorio (con un número reducido de especies, y en condiciones estandarizadas que reproducen sólo en forma muy parcial las condiciones naturales en el ambiente), o de campo (con “encierros” sometidos a las condiciones del medio).

Mediante los ensayos de toxicidad se estudian las relaciones dosis o concentración, efecto y dosis o concentración - respuesta (efecto: cambio biológico evaluable por una escala de intensidad o severidad; respuesta: proporción de la población expuesta que manifiesta un efecto definido).

Los organismos empleados para los ensayos deben tener alta sensibilidad a los tóxicos, ya que al establecer las concentraciones seguras para ellos se espera proteger a todo el ecosistema, pero hay que tener en cuenta que distintas especies tienen diferente sensibilidad a distintas sustancias químicas. Más de 150 especies desde bacterias hasta mamíferos se usaron como organismos para test, pero sólo unas 40 tuvieron cierta aprobación oficial.

De todos modos, ninguna especie aislada podría representar adecuadamente un ecosistema entero en sensibilidad toxicológica, por lo que hay organizaciones que recomiendan una serie de ensayos crónicos incluyendo, por ej: algas, dáfidos y peces . Se utilizan métodos integrados (secuencial, para evaluar la toxicidad de sustancias químicas puras, y simultáneo, para desechos que contienen varias sustancias diferentes). Los ensayos deberían complementarse con monitoreos biológicos y el uso de indicadores ecológicos.



4.3.1.2.1 Efecto tóxico⁸¹

El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico.

El efecto puede ser:

Cuantal: consistente en la presencia o ausencia de una característica (p. ej. muerte o existencia de tumores).

Letal: la muerte por acción directa como consecuencia de la exposición a una determinada concentración de un agente tóxico.

Subletal: se produce por debajo del nivel que causa la muerte como resultado directo de la exposición a una determinada concentración de un agente tóxico.

Agudo: aquel causado por acción de sustancias químicas sobre organismos vivos, que se manifiesta rápida y severamente (después de un corto período de exposición: 0 - 96 h, típicamente.).

Crónico: aquel que se produce, en general, después de un prolongado período de exposición (normalmente se manifiesta después de días o años, según la especie).

⁸¹ VERMEIRE, T. G., A. A. J. van IERSEL, F. A. A. M. de LEEUW, W. J. G. M. PEIJNENBURG, P. van der POEL, R. D. F. M. TAALMAN y C. TOET. 1992. Initial assessment of the hazards and risks of new chemicals to man and the environment. Nat. Inst. Publ. Health Env. Prot.: 115 pp



Aditivo: la magnitud del efecto o respuesta simultánea de dos o más sustancias es igual a la suma de los efectos o respuestas de cada una.

Combinado: cuando dos o más sustancias aplicadas al mismo tiempo producen distintos efectos o tienen diferentes modos de acción.

De potenciación o sinergismo: cuando la toxicidad de una mezcla de agentes químicos es mayor a la esperada por la simple suma de las toxicidades de los agentes individuales presentes en la mezcla.

De inhibición o antagonismo: cuando la toxicidad de una mezcla de agentes químicos es menor a la esperada por la simple suma de las toxicidades de los agentes individuales presentes en la mezcla.

Las pruebas de Fitotoxicidad⁸² que emplean plantas terrestres, no son usadas frecuentemente en ecotoxicología. Las tres características más importantes de los ensayos con plantas terrestres, son que se les puede usar con muestras coloreadas o turbias, en ensayos estáticos, semiestáticos y de flujo continuo, y con un mínimo costo de mantenimiento en el laboratorio⁸³ En evaluaciones de toxicidad aguda el efecto medible es la **mortalidad** y en evaluaciones de toxicidad crónica los efectos son subletales que comúnmente se determinan mediante **la reducción del crecimiento o la variación en el número de descendientes**.

⁸² Fitotoxicidad. El porcentaje de plantas necróticas se valoró mediante la cuantificación del desarrollo de las plantas expresadas en características morfológicas como el porcentaje de hojas cloróticas y tallos, contrastando con la concentración de Hg adicionada al medio de cultivo (Kabata y Pendías, 2001).

⁸³ (Wang, 1991).



En una muestra sin toxicidad los organismos expuestos a la muestra al 100 %, no manifestarán daño o no habrá diferencias significativas en el parámetro medido respecto al grupo control.

Los efectos de requerimientos nutricionales y tóxicos de los metales se estudian en condiciones controladas con el fin de diferenciarlos de aquellos que pueden ser producto de interacciones con microorganismos que están presentes en condiciones in vivo⁸⁴.

La sensibilidad de las especies vegetales a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y familias, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes y las diferentes respuestas a los metales pesados pueden ser atribuidas a factores genéticos y fisiológicos⁸⁵.

Existen diferentes respuestas entre distintas especies de plantas vasculares respecto de los niveles de tolerancia o toxicidad frente a la exposición a metales pesados (Kabata-Pendias & Pendias, 1985; Van Stevenick et al., 1992; Cunningham & Lee, 1995; Lewis, 1995; Gupta et al., 1996; Crawley, 1997; Samantary, 2002; Deng et al., 2004). Wang (1987) compara la respuesta de tres especies de plantas vasculares comestibles (*Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* y *Panicum miliaceum*) expuestas a compuestos orgánicos y metales pesados, observando una mayor sensibilidad de *L. sativa* por los metales, mientras que con relación a la toxicidad de compuestos orgánicos, la sensibilidad fue mayor en la especie *P. miliaceum*. Por otra parte, Cheung et al. (1989) comparan la sensibilidad de 13 especies comestibles frente a la exposición a diferentes metales pesados, observando que la respuesta de éstas es dependiente del elemento estudiado y no encuentran patrones generales de toxicidad

⁸⁴ (Ross, 1994; Liu et al., 2009).

⁸⁵ (Callow, 1993; Ci et al., 2009)



4.3.1.4 Posibles Rutas de acumulación de metal Hg en la planta⁸⁶

El estado electroquímico y la especiación química de elementos contaminantes pueden contribuir a su movilidad desde las raíces a los brotes. En el caso del mercurio se consideran las especies más móviles: el mercurio elemental y el ión mercurio II.

La mayoría del mercurio Hg(II) que es capturado permanece ligado a los tejidos de la raíz, mientras que el mercurio Hg(0) capturado por las raíces y por las hojas es reducido a Hg(II) y permanece ligado a los tejidos⁸⁷

Una vez el tóxico ha sido transportado a las partes superiores de la planta, este se concentra y se almacena; este paso requiere de la transformación a especies más o menos reactivas que favorezcan esta acumulación. Las plantas en general son capaces de secuestrar los iones tóxicos en complejos en el citoplasma para defenderse de su fitotoxicidad.

El control de estas dos variables maximiza el almacenamiento de los elementos en las hojas, los tallos y los tejidos vasculares, así el mercurio es transportado como Hg(0) a las partes superiores de las plantas, donde los niveles de peroxidasa y catalasa oxidan el Hg(0) a Hg(II).

El Hg(II) es altamente reactivo y forma productos particularmente estables con tioles reducidos que pueden almacenarse en las plantas en grandes cantidades⁸⁸. Los posibles mecanismos causales de la toxicidad del mercurio son los cambios en la permeabilidad de la membrana celular, reacciones de sulfhidrilo (-SH) con cationes, la afinidad para reaccionar con grupos fosfato y grupos de ADP o ATP, y

⁸⁶ Rafael Esteban Ortega-Ortega, Javier Darío Beltrán-Herrera*, José Luis Marrugo-Negrete* Acumulación de mercurio (Hg) por caña flecha (Gynerium sagittatum) (Aubl) Beauv. in vitro

⁸⁷ (Moreno et al., 2005).

⁸⁸ (Meagher y Heaton, 2005)



la sustitución de los iones esenciales, principalmente grandes cationes, e intervenir la fotosíntesis, la absorción de nutrientes minerales y la transpiración⁸⁹.

La mayor parte del mercurio acumulado está atrapado en las raíces y solo una pequeña cantidad puede ser traslocada a los tallos-hojas.

La captación principalmente se realiza en la punta de la raíz, antes de la formación de la banda de Caspary (Agrasar y Sánchez, 1989; Giraldo, 2005), la cual constituye una barrera que impide al metal pasar por apoplasto, forzándola a través del citoplasma que es selectivamente permeable⁹⁰.

La banda de Caspary es una capa de suberina impermeable que se extiende sin sucesión de continuidad a lo largo de las paredes radiales y transversales, y constituye una barrera eficaz contra el movimiento pasivo de metales pesados en la estela, incidiendo de este modo en la acumulación de metal⁹¹

La endodermis divide el apoplasto de la raíz en dos compartimentos, lo que resulta muy conveniente para el desplazamiento selectivo de iones, minerales y agua. Los iones presentes en la solución se pueden difundir libremente en todo el córtex, pero no pueden atravesar la banda de Caspary.

Para entrar al cilindro vascular, es decir, a la corriente transpiratoria, deben cruzar la membrana plasmática de una célula endodérmica, y así la planta controla qué iones pasan y qué iones son excluidos⁹².

⁸⁹ (Barber et al., 1973; Godbold y Hüttermann, 1988; Godbold, 1991; Patra y Sharma, 2000)

⁹⁰ (simplasto) (Matilainen et al., 2001; Wang, 2004)

⁹¹ (MacFarlane y Burchett, 2000; Lux et al., 2004; Wang, 2004; Alassimone et al., 2010).

⁹² (Pulford y Watson, 2003; Wang, 2004; Alassimone et al., 2010)



4.4 FITORREMEDIACIÓN

El término fitorremediación fue acuñado por el ruso Ilya Raskin 1994 y definido como el conjunto de tecnologías que ayudan a la recuperación de suelos y aguas contaminados mediante biomasa vegetal viviente. Comprende el uso de plantas verdes, incluidas especies leñosas, para contener, eliminar o neutralizar compuestos orgánicos, elementos traza o radionucleidos que pueden ser tóxicos en suelos o aguas por su rápida inserción en la cadena alimenticia humana. También se puede decir que la fitorremediación es el uso de plantas para recuperar suelos contaminados, es una tecnología in situ no destructiva y de bajo costo y está basada en la estimulación de microorganismos degradadores⁹³.

Fitorremediación incluye cualquier proceso biológico, químico o físico inducido por las plantas que promueve la absorción, secuestro, degradación y metabolismo de los contaminantes, ya sea por las mismas plantas o por microorganismos que se desarrollan en la rizósfera⁹⁴

La absorción de elementos por medio de las raíces es la ruta más importante para el ingreso de los elementos trazas en las plantas, sin embargo se ha observado que otros tejidos también pueden absorber metales. Las primeras teorías sobre la nutrición de las explicaban la absorción de las sales inorgánicas como un proceso de transporte pasivo al interior de la planta, el cual iba de la mano con la absorción del agua. Estas teorías fueron catalogadas como incompletas porque no explicaban claramente las diferencias entre el contenido de las sales de los tejidos de la planta y el medio en el cual crecían⁹⁵.

⁹³ (Merkl et al., 2004)

⁹⁴ .(Merkl et al., 2004)

⁹⁵ Estudio preliminar de la fitoremediación de cobre divalente mediante Pistia stratioides (lechuga de agua)



Actualmente la teoría que se acepta considera la absorción de sales como un proceso predominantemente activo y no pasivo. Una vez que las sales disueltas en solución han entrado en contacto con el sistema radicular, se inicia el proceso de adsorción. A este punto, el tamaño del ión metálico posee un factor preponderante en este proceso ya que a mayor tamaño, se presenta una mayor dificultad en atravesar las membranas celulares⁹⁶.

La capacidad de acumular metales no es característica común en la mayoría de las plantas, por el contrario es fruto de una respuesta evolutiva, ya que la ocurrencia en forma natural de niveles altos de metales en la biosfera es esporádica. Particularmente entre las plantas acumuladoras de metales, se han encontrado especies que poseen la capacidad de acumular cantidades extraordinarias que se elevan notablemente sobre los índices considerados como tóxicos para el reino vegetal⁹⁷. A este tipo de plantas se le ha denominado hiperacumuladoras de metales.

La necesidad y la capacidad de tolerancia de las distintas especies vegetales es variada, ocasionando que por cada especie se pueda establecer un rango de valores sobre los cuales comienzan a darse signos de toxicidad y la posibilidad que estos varíen con el desarrollo de la planta, su nutrición, las características de su entorno, etc. Es por ello que cuando se trata de indicar valores de concentraciones de metales tóxicos para las plantas, cada autor cita valores diferentes, pero por lo general cercanos⁹⁸.

Guillermo Torres, Abel E. Navarro, Jaime Languasco, Karol Campos y Norma A. Cuizano. Departamento Académico de Química Universidad Peruana Cayetano Heredia, Urb. Ingeniería, Lima, Perú. Chemistry Department, Graduate School of Arts and Science, New York University, New York, NY, US Febrero 2007

⁹⁶ (Dushenkov & Raskin, 2000)

⁹⁷ (Dushenkov & Raskin, 2000)

⁹⁸ Extraído del artículo Estudio preliminar de la fitoremediación de cobre divalente mediante Pistia stratioides



Con base en el estudio realizado por el artículo de Torres *et al.*, (2007), *el efecto directo de los metales cuando alcanzan las concentraciones tóxicas en la planta es un cambio en el balance iónico de la célula. Ante la posibilidad de estos desórdenes fisiológicos, todas las plantas han desarrollado una serie de respuestas para tolerar y por tanto sobrevivir hasta un cierto umbral de concentración de metales. El conjunto de las respuestas visibles forman lo que denominamos síntomas de estrés. Los síntomas causados por el exceso de metales en las plantas son muchas veces comunes a los diversos metales. Los síntomas más comunes son una reducción del crecimiento y amarillamiento de las hojas.* Determinando las condiciones óptimas para el metal y tolerancia de la planta como pH, concentración del metal y de nutrientes; en la cual se maximiza la capacidad de eliminación y la cinética del proceso de absorción del metal, con fines de rentabilidad y aplicabilidad a grandes escalas (Singh *et al.*, 2003)

En estudios recientes se ha demostrado que la fitorremediación es una solución prometedora para la limpieza de sitios contaminados por una variedad de metales, aunque también tiene una serie de limitaciones , además, es un proceso de descontaminación que involucra el empleo de plantas que pueden remover, transferir, estabilizar, descomponer y/o degradar contaminantes de suelo, sedimentos y agua, como solventes, plaguicidas, hidrocarburos poli aromáticos, **metales pesados**, explosivos, elementos radiactivos, fertilizantes, para hacerlos más biodisponibles para la planta⁹⁹

⁹⁹ (McGrath *et al.*, 2001)



4.4.1 Desarrollo de distintas técnicas de fitorremediación:

Se han desarrollado distintas técnicas de fitorremediación entre las cuales se destacan las siguientes:

a) Fitoextracción, en donde se busca concentrar los contaminantes en la parte aérea de las plantas utilizando en muchos casos abonos y otras sustancias químicas al suelo para favorecer la biodisponibilidad del contaminante;

b) Fitovolatilización, en donde las plantas extraen radionucleidos del suelo para volatilizarlo por las hojas;

c) Fitoestabilización, para estabilizar y retener los radionucleidos en el suelo, evitando su dispersión en el ambiente; y

d) Rizofiltración para el tratamiento de efluentes contaminados (Dushenkov, 2000). Las plantas que se utilizan con este fin se cultivan en invernaderos, con las raíces sumergidas en agua, en lugar de tierra. Cuando el sistema radicular de la planta está bien desarrollado, sus raíces se colocan en contacto con el agua o efluente a tratar.

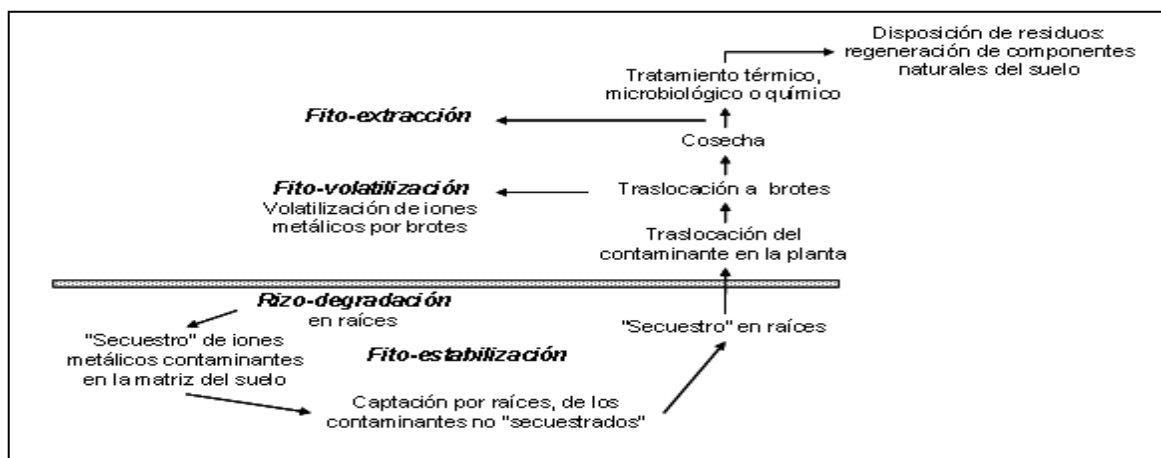


Figura 3. Rutas de Fitorremediación, según Singh et al. (2003).



4.4.2 RIZOFILTRACION

La rizofiltración utiliza las plantas para eliminar del medio hídrico contaminantes a través de la raíz. En la rizofiltración estas plantas se cultivan de manera hidropónica. Cuando el sistema radicular está bien desarrollado, las plantas se introducen en el agua contaminada con metales, en donde las raíces los absorben y acumulan. A medida que las raíces se van saturando, las plantas se cosechan y se disponen para su uso final¹⁰⁰

La rizofiltración es una de las opciones que presenta mejor relación de costo-beneficio respecto a otros métodos empleados para el tratamiento de efluentes líquidos. Además es estética y naturalmente amigable con el ambiente, por lo que se presenta como una forma de descontaminación socialmente aceptable para las comunidades circundantes y para los organismos de control respectivos. Un resumen de los parámetros que regulan el proceso de rizofiltración según (Dushenkov *et al.*, 1995)

La evapotranspiración (Evp) está relacionada con el crecimiento vegetal. Mientras las plantas no muestren síntomas de toxicidad que les impida el crecimiento, la evapotranspiración puede ser importante y conveniente desde el punto de vista del tratamiento de agua porque reduce el volumen.

El volumen de agua en el tanque (Vt) debe mantenerse relativamente constante para que las raíces de las plantas se encuentren siempre en contacto con el agua.

El flujo de entrada del agua o volumen de ingreso (Vi) habría que fijarlo en función de los parámetros comentados anteriormente pero también del tiempo de residencia de agua en el tanque.

¹⁰⁰ (Nedelkoska & Doran, 2000)



Si bien la concentración inicial (**C_i**) disminuye drásticamente en las primeras 24 horas, tanto por la adsorción a paredes del recipiente (**C_{ad}**) como a la retención en la pared celular es necesario realizar ajustes para evaluar la conveniencia de reducir el tiempo total de contacto porque esto reduciría el consumo de agua.

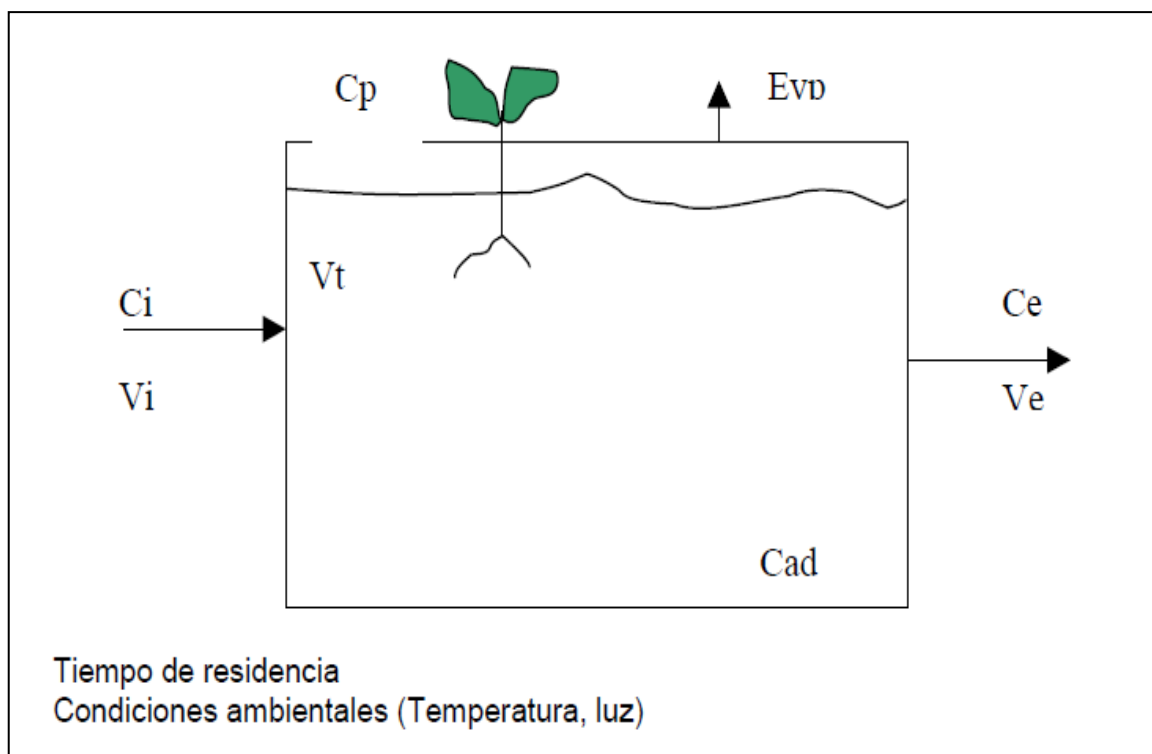


Figura 4. Esquema de Rizofiltración¹⁰¹.

Por otra parte, en la India se aplicó para el tratamiento de agua contaminada con cadmio, plomo y níquel empleando raíces de mostaza, geranio y girasol. Esta técnica se ha aplicado incluso para el tratamiento de agua con residuos radiactivos, en Chernobyl (Ucrania), donde se usaron plantas de girasol.

¹⁰¹ Silvia C. López ; Mariana A. Melaj; Guido Tomellini y Olga Martin, Comisión Nacional de Energía Atómica, Rizofiltración en el Tratamiento de Aguas Contaminadas con Uranio



4.5 CARACTERISTICAS DEL SISTEMA VETIVER

El pasto vetiver (*Vetiveria zizanioides*) es una gramínea perenne que posee un sistema radicular masivo, profundo (2 a 3 m de crecimiento en un año); fuerte, su resistencia a la tracción es de 75 MPa, equivalente a 1/6 del acero blando (Hengchaovanich & Nilaweera, 1996), ello amarra el suelo. Su follaje es erecto, alto, abundante e igualmente fuerte; siendo capaz, cuando se establecen barreras con él, de soportar láminas de agua de inundación de hasta 80 cm y reducir su velocidad casi a cero¹⁰²;; a la vez que retiene los sedimentos.

Es una planta asexual, es decir, sus semillas no son fértiles, y por ende no hay riesgo de que se convierta en maleza. Una vez establecido tolera condiciones extremas de: sequías; inundaciones; quema (rebrot a la semana); temperaturas (-14° C a 46° C); altitudes (0 m hasta 2800 msnm); pH (3 a 12.5); se adapta a suelos con presencia de aluminio, arsénico, cadmio, cobre, cromo, plomo, manganeso, mercurio, níquel, selenio y zinc; suelos sódicos, salinos, alcalinos (Hengchaovanich & Nilaweera,1996).

Esas condiciones de rusticidad y gran adaptabilidad a las más variadas condiciones edáfoclimáticas, aunado al hecho de la diversidad de usos, tanto desde el punto de vista de conservación de suelos y aguas en actividades agrícolas, como en estabilización de áreas afectadas por otras actividades, recuperación de áreas degradadas, en fitoremediación, tratamiento de aguas servidas o residuales, además de la extracción de aceites esenciales, control de plagas, como planta medicinal, abono orgánico, alimentación animal y en artesanía, entre otros, así como su facilidad de propagación, ha favorecido posiblemente su expansión a nivel mundial (Hengchaovanich & Nilaweera, 1996).

¹⁰² (Hengchaovanich & Nilaweera, 1996)



Aunque a través de los años se ha ensayado la utilización de muchas hierbas y árboles, como medida de restauración, el Vetiver ha sido probada en distintas situaciones probando su efectividad. Como queda de manifiesto en la enumeración de sus características que se presentan a continuación y que se deriva de observaciones recogidas en todo el mundo sobre el pasto vetiver (*V. zizaniodes*), esta planta verdaderamente notable resulta ideal para el sistema vegetal de rehabilitación de áreas degradadas.

No se conoce ninguna otra hierba que la iguale en resistencia y diversidad

- Cuando se la planta correctamente, forma rápidamente un cerco espeso y permanente
- Tiene un sistema radicular fuerte que penetra y fija el suelo hasta una profundidad de tres metros y puede resistir los efectos de la tunelización y el agrietamiento.
- Es perenne y requiere un mínimo de mantenimiento
- Es prácticamente estéril y debido a que no produce estolones ni rizomas, no se convierte en maleza.
- Su corona se halla bajo la superficie, lo que la protege contra el fuego y el exceso de pastoreo.
- Sus hojas afiladas y sus raíces aromáticas repelen a los roedores, las serpientes y otras plagas similares.
- Sus hojas y raíces han demostrado ser resistentes a la mayoría de las enfermedades.
- Es tanto xerófila como hidrófila, una vez establecida puede resistir sequías inundaciones y prolongados periodos de anegamiento.
- No compite con las plantas para cuya protección se las utiliza. Los cercos de vetiver han demostrado no solo que no producen efectos negativos en el rendimiento de los cultivos alimentarios plantados en su vecindad, sino que, hasta pueden llegar a aumentarlo.



- Se cree que posee micorrizas que fijan el nitrógeno lo que explicaría el hecho que se mantiene verde durante todo el año.
- Crece en cualquier tipo de suelo con prescindencia de la fertilidad, el pH o la salinidad de éste. Ello incluye arenas, esquistos, suelos de grava e incluso suelos tóxicos debido a su contenido de aluminio.
- Crece en una amplia variedad de climas. Hay información de que crece en zonas con una precipitación de media anual de entre 200 y 6 mil mm y temperaturas de entre -9° y 45° C.
- Es una planta perfectamente adaptada, de modo que aun cuando todas las demás plantas de los alrededores han sido destruidas por la sequía, las inundaciones, las plagas, las enfermedades u otras circunstancias adversas, el vetiver permanece en su lugar para proteger al suelo de las próximas lluvias.

Principales utilidades del vetiver

- Barrera contra la erosión, Prevención de corrimientos de tierras y desastres naturales, Control polución del agua: eficiente en la absorción de N, P, Hg, Cd y Pb, Capacidad de descontaminación de contaminantes agrícolas químicos, Rehabilitación de áreas contaminadas y degradadas. Prevención de Desastres Naturales.



4.5.1 Fundamentos de la Tecnología Vetiver para tratamiento de aguas

Como se mencionó en apartados anteriores En las últimas décadas del siglo XX surgieron tecnologías basadas en el empleo de organismos vivos para descontaminar emplazamientos contaminados y recuperar los ecosistemas afectados. Cuando estas tecnologías se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación¹⁰³ Se define como el uso de plantas verdes para eliminar los contaminantes del entorno o para reducir su peligrosidad¹⁰⁴

El sistema vetiver utiliza este sistema para su operación; al tratarse de ua tecnología que utiliza las potencialidades de la especie Vetiver para extraer contaminantes de suelos y aguas. Dentro de las técnicas de Fitorremediación se encuentran la fitoextracción, la cual como su nombre lo indica consiste en extraer con plantas algún agente contaminante.

Otro nombre conocido para este tipo de sistemas que simulan condiciones que ocurren de manera natural para eliminar contaminantes del medio son los humedales. Los humedales artificiales han sido considerados como una efectiva tecnología para el tratamiento de aguas contaminadas con metales.

Una ventaja de esta tecnología es que por ser un sistema de tratamiento pasivo, los costos de operación y mantenimiento son significativamente más bajos que para procesos de tratamiento activos.

Los humedales artificiales usan procesos biogeoquímicos naturales inherentes a un ecosistema natural para acumular y remover metales de las aguas residuales afluentes.

¹⁰³ (Carpena, 2007)

¹⁰⁴ (Salt et al., 1998).



La movilización e inmovilización de metales en humedales, son afectadas por muchos mecanismos que trabajan independientemente en algunas situaciones o interactivamente en otros, haciendo de esta manera los procesos de remoción de metales bastante complejos.

Los humedales construidos se han clasificado tradicionalmente en dos tipologías atendiendo a si la circulación del agua es de tipo subterránea o superficial. En los humedales de flujo superficial (en inglés surface flow constructed wetlands o free water surface constructed wetlands) el agua está expuesta directamente a la atmósfera y circula preferentemente a través de los tallos de los macrófitos.

La terminología aplicada a los humedales de flujo subsuperficial es particularmente confusa. En castellano es corriente escuchar en foros técnicos o leer en la literatura términos como filtros con plantas, lechos de plantas, lechos de juncos y biofiltros. Incluso es muy frecuente la utilización del término inglés wetland en forma de neologismo cuando existe un equivalente castellano perfecto (humedal). La terminología puede resultar confusa incluso en inglés, ya que también se utilizan términos como vegetated submerged beds y reed beds entre otros. En castellano, el término más correcto probablemente sea el de filtro de plantas, ya que en definitiva se trata de filtros plantados, y la palabra filtro tiene un significado muy bien delimitado en tecnología de aguas.

El agua es uno de los recursos naturales más importantes para la humanidad. Una buena calidad del agua significa la ausencia de contaminantes. Los Humedales para el tratamiento de Aguas en Colombia han sido objeto de poca investigación y en la región este campo ha sido poco explorado, a pesar de que ellos son un sistema ecológico, de bajo coste y poco complicado de explotar¹⁰⁵.

¹⁰⁵ Monografía Sobre Humedales Artificiales De Flujo Subsuperficial (Hafss) Para Remoción De Metales Pesados En Aguas Residuales. ISLENA YINETH ESTRADA GALLEGO
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1833/1/333918E82.pdf>



El uso del sistema con el pasto vetiver (*V. zizainoides*) es un método a bajo costo para tratar aguas residuales domésticas e industriales; en investigaciones se ha demostrado que el vetiver puede ser usado bajo condiciones hidropónicas; es nativa de ambientes higroscópicos, como humedales lagunas pantanos y es extremadamente tolerante a sequías así como a inundaciones y condiciones sumergidas por lo que se considera efectivo para el caso de conservación y purificación de corrientes de agua.

Por otro lado al vetiver se le ha señalado como una planta que puede eliminar diversas sustancias contaminantes de las aguas, entre ellos algunos metales pesados: Pb, Hg, Cd según Sripren *et al.* (1996); utiliza mecanismos empleados por las plantas fitorremediadoras, las cuales absorben a través de las raíces y las hojas estas lo hacen mediante los estomas y la cutícula de la epidermis (Watt & Evans 1999); esta absorción ocurre en la rizodermis de las raíces jóvenes que absorben los compuestos por osmosis dependiendo de factores externos como la temperatura y el pH del suelo; después de cruzar la membrana los contaminantes son distribuidos por toda la planta (Harvey *et al.*, 2002) Esta estrategia es utilizada en Australia para rehabilitar desechos de minas (Truong 2000)

4.6 MARCO LEGAL

En Colombia la normatividad ambiental en cuanto a contaminación por mercurio la fija el Decreto 3930 del /2010 y para Metilmercurio es nula. Internacionalmente existen dos entidades que se han encargado de investigar sobre las concentraciones de Metilmercurio nocivas para el ser humano. Estas son:



EPA (Environmental Protection Agency) que define la RfD (Reference Dose o nivel de exposición que no causa efectos adversos en la salud) como *0,1 microgramos por kilogramo de peso del cuerpo por día* con el fin de proteger a los fetos humanos de desarrollar efectos perjudiciales¹⁰⁶.

FDA (The Food and Drug Administration) que define la ADI (Acceptable Daily Intake o nivel de ingestión diaria aceptable) como *0,47 microgramos por kilogramo de peso del cuerpo por día* con el fin de proteger al adulto promedio que es capaz de tolerar los niveles más altos de metilmercurio¹⁰⁷.

El término contaminante EPA (Federal Register. 40 CFR Part 503) en su legislación sobre utilización de lodos, es definido como un organismo patógeno o como una sustancia orgánica o inorgánica o la combinación de ambas, que al tener contacto con un organismo por vía dermal, ingestión o inhalación, directamente del medio ambiente o a través de la cadena alimenticia, pueda causar la muerte, inducir cáncer, producir enfermedades, alteración del comportamiento, mutaciones genéticas, malformaciones fisiológicas y/o físicas¹⁰⁸.

El Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC a través de la Norma 1443 regula las características para consumo humano de pescado fresco, refrigerado, congelado y supercongelado establece como máximo valor permisible $0,5 \mu\text{g/g}$ de mercurio¹⁰⁹

¹⁰⁶ Claudia X. Ramos, Sandra L. Estévez, Eugenio Giraldo. Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000.

¹⁰⁷ Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000

¹⁰⁸ Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000

¹⁰⁹ Nivel De Contaminación por Metilmercurio en la Region de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. A.A. 4976. Bogotá. Colombia. 2000



4.7 TIPO DE INVESTIGACION

La presente investigación se apoya en diferentes tipos de investigación. Una de ellas es La investigación transdisciplinaria, la cual según Petschel-Held (2004), representa un reto para la ciencia.

Al contrario a la investigación científica tradicional, su lugar de acción no es el laboratorio. El desarrollo económico y el de la vida social, contemplando el aspecto ecológico, es una parte de la vida cotidiana. Hadorn, Pohl & Scheringer (2004) explican que “la investigación transdisciplinaria” para la sustentabilidad, “implica ver un problema en un nivel descriptivo, normativo e interactivo.

La investigación transdisciplinaria se traduce entonces, como aquella que favorece una generación de conocimientos sobre procesos, valuaciones y estrategias para mejorar las prácticas de la sociedad y disminuir las prácticas negativas. Por otra parte toma en cuenta las orientaciones de los siguientes tipos de investigación:

4.7.1 Investigación Documental

Es la que se realiza apoyándose en fuentes de carácter documental, esto es, en documentos de cualquier especie tales como, las obtenidas a través de fuentes bibliográficas, hemerográficas o archivísticas.

4.7.2 Investigación de Campo

Se apoya en informaciones que provienen entre otras, de entrevistas, cuestionarios, encuestas y observaciones. En todo caso es importante realizar siempre la consulta documental con el fin de evitar una duplicidad de trabajos, puesto que se reconoce la existencia de investigaciones anteriores efectuadas sobre la misma materia y de las que se pueden usar sus conclusiones como insumos iniciales de la actual investigación



4.7.3 Investigación Experimental

Es la que obtiene su información de la actividad intencional realizada por el investigador y que se encuentra dirigida a modificar la realidad con el propósito de crear el fenómeno mismo que se indaga, y así poder observarlo, sobre la misma se puede o no usar un grupo de control, con el fin de hacer las comparaciones necesarias para comprobar las hipótesis o rechazarlas según el caso. Según el nivel de conocimientos que se adquieren se divide en: exploratoria, descriptiva o explicativa.

4.7.3.1 Investigación exploratoria

Es aquella que se realiza con el propósito de destacar los aspectos fundamentales de una problemática determinada y encontrar los procedimientos adecuados para elaborar una investigación posterior. La importancia radica en el uso de sus resultados para abrir líneas de investigación y proceder a su consecuente comprobación.

4.7.3.2 Investigación descriptiva

Con este tipo de investigación se logra caracterizar un objeto de estudio o una situación concreta, señalar sus particularidades y propiedades. Sirve para ordenar, agrupar o sistematizar los objetos involucrados en el trabajo indagatorio. Esta forma de investigación requiere la combinación de los métodos analítico y sintético, en conjugación con el deductivo y el inductivo, con el fin de responder los cuestionamientos del objeto que se investiga



5. METODOLOGIA

5.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA MUNICIPIO DE QUIBDÓ¹¹⁰

El municipio de Quibdó es la capital del departamento colombiano del Chocó y tiene una población importante en la Región del Pacífico Colombiano. Se encuentra a orillas del río Atrato, es uno de los principales afluentes del país y es una de las zonas con más alta pluviosidad del mundo, está situada a 5° 4' – 16" de latitud norte y 76° 40' de longitud oeste de Greenwich, a 2°- 30" de longitud con relación al meridiano de Bogotá. Situada en la margen derecha del río Atrato, su altitud sobre el nivel del mar 43 m.s.n.m. y una temperatura media de 28° C.



Foto¹¹¹ Municipio de Quibdó

Al igual que la mayoría de los municipios del departamento, Quibdó está ubicado en llanura de inundación, donde varias quebradas y ríos emergen de las cordilleras.

¹¹⁰ Tomado del Plan de Ordenamiento Territorial Quibdó (2001 -2003)

¹¹¹ <http://c0364889.cdn2.cloudfiles.rackspacecloud.com/wp-content/uploads/2011/06/CHOCO-QUIBDO- RIO-ATRATO.jpg>



5.1.2 FACTORES CLIMATICOS.

EL Municipio de Quibdó está ubicado en la región de las calmas ecuatoriales y, corresponde a las zonas de vida de bosque muy húmedo tropical (bmh – T) y bosque pluvial tropical (pb-T)¹¹². Los cuales se caracterizan por altas precipitaciones y temperaturas superiores a 24°C.

Presenta tres unidades climáticas: Cálido súper húmedo (Cs), con una extensión aproximada de 275.000 ha, equivalentes al 82.39 % del territorio, en donde se localizan todos los centros poblados del municipio.

Medio súper húmedo (Mh), con 47.500 Ha y 14.23 %, se encuentra en esta zona el sector occidental del resguardo de Bebarama Muy frío y frío húmedo y perhumedo (Fh), 11.250 Ha. Equivalentes al 3.38%, en este sector no se encuentran poblaciones. El clima cálido súper húmedo se encuentra en la zona de ladera, o sea en las tierras que se localizan en ambas vertientes de la cuenca hidrográfica del medio Atrato.

5.1.2.1 Temperatura

Para el análisis de la temperatura se tomaron los datos de la estación metereológica del Caraño, en la ciudad de Quibdó que se encuentra entre 35 y 47 m.s.n.m. No existe una variación significativa de las temperaturas a través de todo el año. Las fluctuaciones diarias de la temperatura del día y la noche pueden ser superiores a 15°C o sea en menos de 24 horas

¹¹² según el sistema de Holdrige (1963)



5.1.2. 2 Precipitación

La precipitación es de origen convectivo, o sea por el calentamiento diurno de la superficie terrestre, especialmente en las horas de la mañana, cuando comienza a producirse la evaporación y evotranspiración que dan origen a la nubes de gran desarrollo vertical durante la mayor parte del año y producen precipitación de gran intensidad acompañada de tormentas eléctricas.

A partir del mes de abril cuando penetran los vientos alisios del sur por las colinas de Chachajo, en la serranía del Baudó, comienza un aumento de los volúmenes de precipitación que llega hasta el mes de agosto.

A partir de este mes comienza a disminuir los volúmenes hasta los meses de enero a febrero y marzo, que corresponden con los de menor precipitación del año o sea cuando la zona de convergencia intertropical se localiza en el extremo sur de Colombia y la cuenca bajo la influencia de los alisios del norte.

La precipitación comienza a disminuir de 9.000 mm a 5.000 mm en los sentidos sur Nor- Oeste y sur Nor-Este

5.1.3 RECURSO HIDRICO.

La totalidad de su territorio se encuentra sobre la cuenca hidrográfica del río Atrato, la cual representa un poco más del 60% del área del departamento del Chocó. El río nace en la cordillera occidental en los altos de la Concordia y los Farallones del Citará, sobre una cota de 3.700 m.s.n.m., en el municipio de El Carmen de Atrato, en el mismo departamento del Chocó.

Convencionalmente la cuenca se divide de la siguiente manera¹¹³

¹¹³ Desarrollo Rural Agrícola Integral (DIAR) "Evaluación de Tierras" (Agricultura, especies menores, bosques comunales, pesca). Región Atrato Medio - Chocó. Tomo II.



Alto Atrato. Comprende los municipios de El Carmen de Atrato, Bagadó y una parte de los municipios de Lloró, Tadó, Istmina y Quibdó.

Medio Atrato¹¹⁴. Comprende los municipios de Quibdó, Medio Atrato, Atrato y Bojayá, en el departamento del Chocó, Vigía del Fuerte y una parte de Urrao, en el departamento de Antioquia.

Bajo Atrato. Comprende una pequeña parte del municipio de Bojayá y los municipios de Riosucio y Unguía, en el departamento del Chocó. Los municipios de Murindó, Pavarandó y parte de Turbo, en el departamento de Antioquia.

El Municipio de Quibdó se encuentra inscrito en la zona del Medio Atrato. La superficie de drenaje del Medio Atrato es aproximadamente 806,477 hectáreas, de las cuales aproximadamente 130.000 hectáreas o sea un 16% del área total, corresponde al valle geográfico o llanura aluvial que separa la serranía del Baudó de la cordillera occidental, cuya topografía es plana o casi plana. El 84% del área corresponde al área de ladera de la zona. La vertiente oriental de la cuenca o cordillera occidental, tiene elevaciones por encima de 1.000 m.s.n.m. En esta zona la mayor densidad de la población se localiza hacia la margen derecha del río y hacia la vertiente o cordillera occidental. En la parte alta de la vertiente occidental o serranía del Baudó, se localiza la mayoría de las comunidades indígenas.

5.1.3.1 Régimen Hidrológico Del Rio

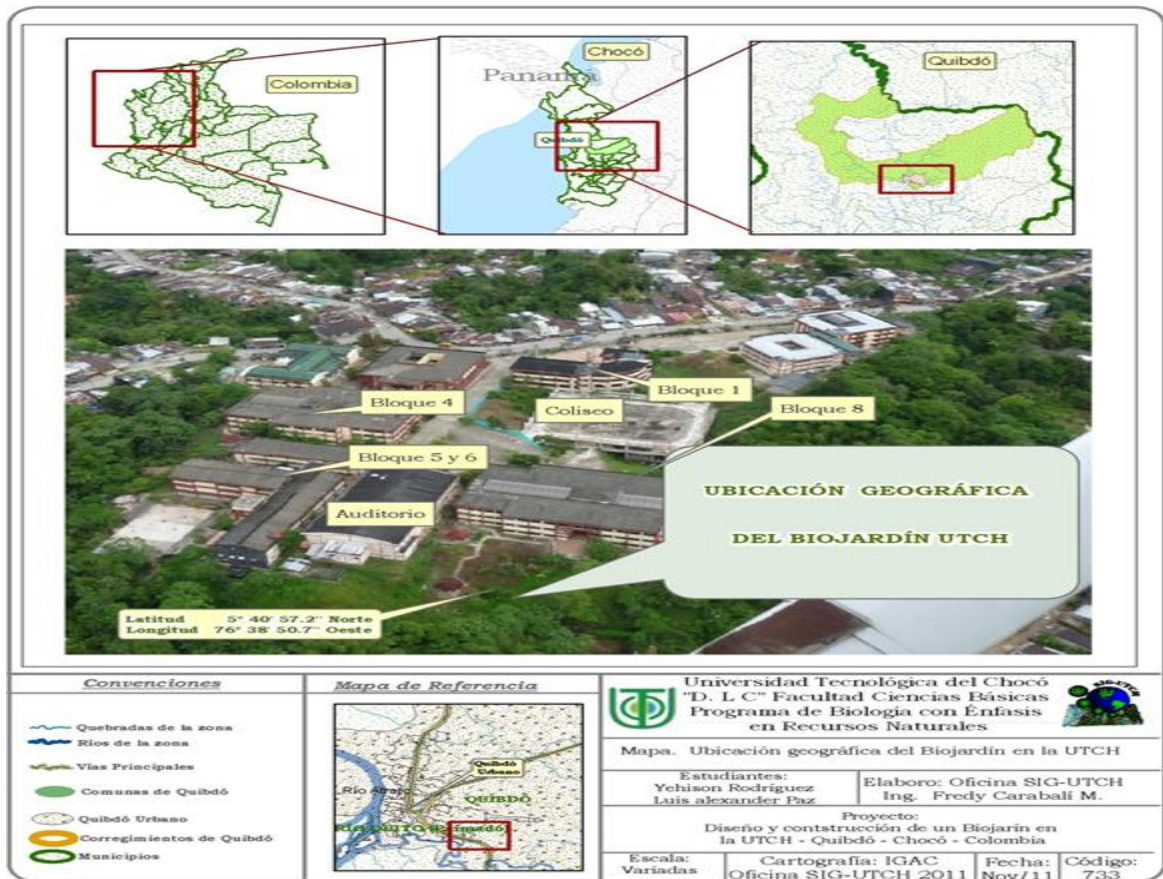
La cuenca del río Atrato se considera como una de las cuencas de mayor rendimiento del mundo, Si se compara su caudal promedio en relación con su área de captación, se obtiene 161 litros/seg./Km². Siendo este un dato muy alto comparado con el del resto del país que está en 53 litros/seg./Km² Los volúmenes de agua del río, a la altura de la ciudad de Quibdó, son de 1.022 m³/seg.

¹¹⁴ Nueva organización política administrativa, diciembre 1999



5.2 UBICACIÓN UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DEL CHOCÓ

La Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, ciudadela universitaria, está ubicada en la salida de la carretera Quibdó – Pereira, barrio Medrano, Municipio de Quibdó, Departamento del Chocó – Colombia. Quibdó, cabecera municipal está ubicado a 5°, 41` de latitud norte y a 76° 40` de longitud oeste del meridiano de Greenwich, con una temperatura de 26° C, el clima se encuentra acondicionado con la alta precipitación durante el año con un promedio de 6775 mm. El territorio comprende regiones de diferentes climas ya características, desde zonas selváticas y húmedas de la parte occidental hasta las zonas frías y secas en la cima del sistema andino colombiano (Mosquera 1997).



Mapa 1. Ubicación Universidad Tecnológica del Chocó



La metodología de esta investigación se desarrolló en tres fases como se describe a continuación.

5.3 FASES

5.3.1 FASE 1: Se Recopiló las bases teóricas de la técnica

Fue el resultado de análisis de las publicaciones realizadas sobre el tema mediante la revisión bibliográfica, con el fin de conocer acerca de la problemática de la contaminación por mercurio derivada de la explotación de oro, sus consecuencias e implicaciones al medio ambiente y la salud, en segundo lugar se revisa los fundamentos de Biotecnología ambiental haciendo énfasis en la fitorremediación como herramienta potencial para atender problemas de contaminación ambiental, siguiendo con el análisis de la rizofiltración como una técnica viable para el tratamiento de efluentes contaminados por mercurio.

Se desarrolló en las etapas siguientes:

Detección de las fuentes: se ubicó físicamente el material que servirá con referencia para el problema de estudio.

Obtención y consulta de fuentes: localización física del material de consulta y revisión.

Extraer y Recopilar: selección y revisión de las fuentes en donde se procede a extraer la información necesaria para después integrarla

Organización del material: una vez se han extraído suficientes datos se procede a comparar la información obtenida con diversas fuentes.



5.3.2 FASE 2: Establecimiento y desarrollo del cultivo del pasto *V. zizainoides*

5.3.2.1 Material Vegetal

El material inicial fue comprado a la empresa MESETA S.A ubicada en ciudad de Medellín. Después de la recepción en Quibdó, se procedió a la extracción de hijuelos de vetiver sin desarrollo radicular con longitudes entre 5cm y 10cm de largo como se muestra en la foto 5 en la sección de resultados.

5.3.2.2 Desinfección

Se lavaron las semillas tipo hijuelos si raíz con abundante agua y jabón eliminar restos de tierra.

5.3.2.3 Establecimiento

Se tomaron los hijuelos previamente lavados y se dejaron en agua durante 24 horas para hidratarlos y posteriormente pasarlos a vasos desechables con capacidad de 12 oz. (355 ml) rellenos de un sustrato de arena, tierra de hormiga y gallinaza en relación 1:1:1.

5.3.2.4 Modelo Hidropónico

Se Adaptó y modificó el modelo ADIC – VOCA (modelo Hidropónico flotante) raíz de vetiver sumergida y proveniente de plantas colocadas en plataformas flotantes Similitud al sistema conocido como biodisco. Como se muestra en la foto 12

Se aplicó La teoría de la doble capa difusa, que habla del comportamiento de las partículas que se fijan en las raíces como un sistema con cargas negativas y que por intercambio iónico muchos cationes van siendo remplazados del sistema hacia esta doble capa difusa y luego hacia la planta o sencillamente muchos de estos



quedan adsorbidos al sistema con el crecimiento de nuevas raíces y la capacidad de absorción..

Otros aspectos importantes del modelo están relacionados con el metabolismo y los productos de los diversos microorganismos que están en el sistema: bacterias autótrofas, heterótrofas la cuales obtienen energía a través de la luz y del sistema de fotosíntesis, como la presencia de aquellos organismos heterótrofos cuya energía es obtenida del carbono presente en el dióxido de carbono

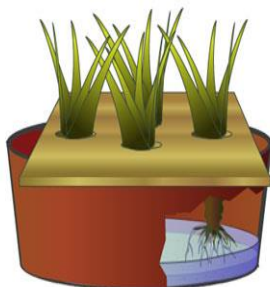
5.3.3 FASE 3: Proceso de diseño del protocolo de rizofiltración

5.3.3.1 Observar y analizar el medio en el cual se desenvuelve el ser humano, descubriendo alguna necesidad.

- **Planear y proyectar** proponiendo un modo de solucionar esta necesidad, por medio de maquetas, tratando de descubrir la posibilidad y viabilidad de la(s) solución(es).
- **Construir y ejecutar** llevando a la vida real la idea inicial, por medio de materiales y procesos.
- **Evaluar**, ya que es necesario saber cuando el diseño está finalizado



5.3.4 FASE 4: Prueba de Ecotoxicidad y estrés al mercurio



El bioensayo de toxicidad consistió en exponer a un grupo de organismos en este caso plantas de la especie vetiver a una prueba estática de toxicidad aguda durante 30 días en la que se pudieron evaluar los efectos fitotóxicos en el proceso de desarrollo de las plántulas en condiciones hidropónicas con un gradiente de diluciones de cloruro de mercurio bajo condiciones controladas para cualificar el grado de daño que la muestra podía ocasionar en los organismos expuestos a ella.

Con este método se observó la tolerancia y resistencia y se planteó un esquema teórico de la posible remoción del metal en condiciones hidropónicas a partir de teorías bioquímicas y fisiológicas de transporte de metales. No existen herramientas analíticas ni instrumentales para medir la toxicidad. Es sólo mediante el uso de organismos vivos que podemos estimar los efectos de los contaminantes en los sistemas biológicos. La ecotoxicología es una rama de la ciencia que integra conceptos de ecología y toxicología (Zakrzewski,1991; Newman & Jagoe,1996)

Las especies vegetales presentan diferente sensibilidad frente a los distintos contaminantes debido a sus diferentes características biológicas, fisiología, morfología, estructura, hábitat y rol ecológico, además de la variación asociada a las diferentes vías de exposición a los tóxicos (contacto directo, a través del agua o suelo) y estado ontogenético durante la exposición (semilla, plántula, planta) (Boutin et al., 1993; Mohan & Hosetti, 1999)



5.2.4.1 Ensayos de toxicidad

En general las variaciones en la sensibilidad dependen del tipo de Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato. Sobrero, 2010 7 muestra analizada, punto final de evaluación del efecto, nivel de organización y tráfico de la especie, tiempo de exposición, etc. (Wang, 1990; Lewis, 1995; Mohan & Hosetti, 1999)

Ante esta situación se considera relevante obtener información sistemática y comparativa de los niveles de toxicidad y el daño que ocasionan distintos contaminantes ambientales sobre especies vegetales, a pesar de que existan datos fitotoxicológicos de una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos (Wang, 1987; van Assche et al., 1988; Barceló & Poschenrieder, 1989; Cheung et al., 1989; Stefani et al., 1991; Hulzebos et al., 1993; Arambašić et al., 1995), además de numerosos trabajos fisiológicos evaluando efectos nocivos y exposición en plantas superiores (Caux et al., 1988; McKenna et al., 1993; Jayaprakash et al., 1994; Prasad et. al., 2001).

Entre los bioensayos de toxicidad con plantas acuáticas, se han aplicado ensayos con macrófitas sumergidas (*Elodea canadensis*, *Ceratophyllum demersum*, *Hydrilla verticillata*, *Myriophyllum* spp.), arraigadas emergentes (*Potamogeton pectinatus*) y flotantes (*Eichornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Salvinia* spp, *Lemna* spp, *Spirodela* spp.), entre otras (Lewis, 1995; Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato. Sobrero, 2010 10 Wang & Freemark, 1995; Mohan & Hosetti, 1999; Lytle & Lytle, 2001; Moschione et al., 2002; Miretzky et al., 2004).



Las Lemnáceas (*Lemna* spp. y *Spirodela* spp.) se encuentran entre las macrófitas más utilizadas en bioensayos de fitotoxicidad (Wang, 1990; Lewis, 1995; Wang & Freemark, 1995; Mohan & Hosetti, 1999), existiendo además protocolos estandarizados para la ejecución de los mismos (ASTM, 1991b; USEPA, 1996; Environment Canada 1999b; OECD, 2002; Environment Canada, 2007).

Estos ensayos permiten cuantificar el efecto de los contaminantes en diferentes parámetros considerados como puntos finales de evaluación de la toxicidad, tales como contenido de clorofila, crecimiento foliar, tasa de multiplicación de la población clonal, etc. El tamaño reducido de estas plantas ofrece ventajas metodológicas para la realización de los ensayos de toxicidad, lo que permite además obtener resultados con menor variabilidad respecto de los ensayos con las demás macrófitas anteriormente mencionadas (Lewis, 1995; Wang & Freemark, 1995; Environment Canada, 2007).



6. RESULTADOS Y DISCUSION

Para responder al objetivo específico correspondiente a analizar el comportamiento del pasto vetiver (v. zizainoides), bajo soluciones hidropónicas con cloruro de mercurio. Se realizaron tareas con relación a:

- Cultivo de la especie vegetal
- Sistema hidropónico o humedal experimental

Para responder al objetivo de establecer un modelo teórico de rizofiltración de mercurio con el pasto vetiver (V. zizainoides), con base en test biológicos y el valor pH.

- Revisión de literatura para la contextualización teórica de la técnica
- Ensayos Ecotóxicos analizar la tolerancia al metal
- Construcción de test biológicos fueron construidos a partir de teorías de Fisiología vegetal con relación, eco toxicología, bioquímica ambiental a estrés por metales y las respuestas en vegetales, un método de monitoreo de presencia /ausencia



6.1. CULTIVO DE LA ESPECIE VETIVER

6.1.1 Del Establecimiento

A continuación, en la figura 5 se evidencia el material inicial, el cual fue lavado con detergente convencional y acondicionado, esto con el objetivo de eliminar agentes contaminantes (hongos, residuos de tierra etc.) para el establecimiento en semilleros.

6.1.1.1 Preparación de semillas



Figura 5. Semillas (rectificar) del vetiver



Figura 6. Lavado y desinfección de semillas

6.1.1.2 Establecimiento de semillas en germinadores

Vasos desechables de 12 oz. (355 ml) rellenos de un sustrato de arena, tierra de hormiga y gallinaza en relación 1:1:1, fueron adecuados para el establecimiento del material vegetal y de esta manera poder establecer el procedimiento para el manejo de la especie en condiciones de cultivo.



Foto 3. Siembra en germinadores



Foto 4. Preparación de Sustrato para el trasplante



6.1.2 Trasplante a Campo Abierto

En bolsas de polietileno con un sustrato (*se refiere a tierra, que para este caso es de hormiga*) rico en materia orgánica (*se refiere al enriquecimiento con gallinaza*), en relación 1:1; el vetiver para su establecimiento demanda sustratos ricos en materia orgánica. Las sustancias orgánicas en el suelo pueden tener un efecto fisiológico directo en el crecimiento de las plantas. Algunos compuestos como las auxinas, mejoran el crecimiento de las plantas¹¹⁵.



Foto 5. Trasplante a bolsa bajo techo



Foto 6 Traslado a campo abierto

En la (**Foto 7**) se muestra una era de crecimiento construida para mantener el vetiver (material vegetal) a disposición.



Foto 7. crecimiento y desarrollo del vetiver en campo abierto

¹¹⁵ <http://www.manualdelombricultura.com/foro/mensajes/11880.html> Función de la materia orgánica en el suelo: Publicado 07/06/2006 por: Martin Nigoul



6.1.3 Adaptación del Material vegetal a condiciones hidropónicas

La especie vetiver es una planta que no se propaga sola por lo que para su multiplicación se requiere separar los hijuelos (**Foto 8**) desde la base de la planta como se muestra en la (**Foto 9**)



Foto 8. Planta de vetiver con brotes múltiples



Foto 9. División de esquejes

El material vegetal se lavó con detergente en polvo común y unas gotas de hipoclorito de sodio comercial disueltos en agua, esto con el objetivo de disminuir la presencia de hongos y microorganismos que pudiera afectar el desarrollo de la planta en condiciones hidropónicas.



Foto 10. Lavado de hijuelos



Foto 11. Hijuelos listos para estimulación de raíces



6.1.4 Crecimiento en Condiciones Hidropónicas y Estimulación de raíces

Siguiendo El Sistema Hidropónico, referido por Troung & Hart (2001) conocido sistema Adic Voca se construyeron estructuras flotantes en balsa forradas en malla de angeo para el establecimiento del vetiver en condiciones hidropónicas flotantes; esto podría garantizar en un futuro poder hacer uso de este procedimiento para el tratamiento de efluentes en condiciones reales. Se realizó una excavación con las siguientes dimensiones 1m x 2.5m x 0.50 m, impermeabilizada con plástico grueso, esta condiciones permitieron crear un ambiente simulado para el desarrollo del vetiver en condiciones flotantes, de manera general la especie se adaptó bien, mostro gran desarrollo de raíces lo que resulta favorable para su futura aplicación en sistema de fitorremediación acuática.(foto 12)

En este medio se vislumbran dos sistemas aeróbico-anaeróbico, en la interface raíz / solución, con una alta población microbiana que contribuyen a las diversas transformaciones de las sustancias contaminantes en el agua.

El segundo sistema de tratamiento está conformado por el propio consumo que hace la planta de vetiver, que generalmente están asociados al conocido flujo masal



Foto 12. Crecimiento en condiciones hidropónicas



A continuación en la (foto 13) se observa una de las estructuras (germinadores plásticos) utilizadas para flotación; en la (foto 16) estructura rectangular de dimensiones escogidas al azar (60cm x 50 cm) construida en balsa, las plántulas se desarrollan, mucho mejor en esta ultimas estructuras ya que presentan mayor masa radicular y un mayor número de brotes nuevos por cada planta.



Foto 13. Esquejes con raíces



Foto 14. Esquejes con raíces listos para pruebas de Fitotoxicidad

Se define la prueba de toxicidad como un ensayo en el cual un organismo o grupo de organismos son expuestos a un agente (químico, físico o biológico), para establecer y medir una respuesta previamente seleccionada. La respuesta se valora mediante la cuantificación del cambio en la característica o la ocurrencia de un determinado fenómeno (muerte, inhibición del crecimiento, entre otros (Díaz-Báez *et al.*, 2005). A continuación se presentan los umbrales de tolerancia por metales conocidos para el vetiver Tabla 4. Umbrales investigados para contaminantes en suelos (ANZ, 1992

Metales pesados	Umbrales para el crecimiento de las plantas en general (mgkg ⁻¹)		Umbrales para el crecimiento del vetiver (mgKg ⁻¹)	
	Niveles hidropónicos (a)	Niveles en el suelo (b)	Niveles en el suelo	Niveles en la planta (parte aérea)
Arsénico	0.02-7.5	2.0	100-250	21-72
Cadmio	0.2-9.0	1.5	20-60	45-48
Cobre	0.5-8.0	NA	50-100	13-15
Cromo	0.5-10.0	NA	200-600	5-18
Plomo	NA	NA	>1 500	>78
Mercurio	NA	NA	>6	>0.12
Níquel	0.5-2.0	7-10	100	347
Selenio	NA	2-14	>74	>11
Zinc	NA	NA	>750	880

Bowen,1979
Baker y Eldershaw (1993)
NA Not available



Metales Pesados	Umbrales (mgKg ⁻¹) Ambiental *	Salud *
Antimonio (Sb)	20	-
Arsénico (As)	20	100
Cadmio (Cd)	3	20
Cromo (Cr)	50	-
Cobre (Cu)	60	-
Plomo (Pb)	300	300
Manganeso (Mn)	500	-
Mercurio (Hg)	1	-
Níquel (Ni)	60	-
Estaño (Sn)	50	-
Zinc (Zn)	200	-

*Máximos niveles permitidos por encima de los cuales se requiere más investigación

Tabla 5. Umbrales de toxicidad por metales pesados para el crecimiento del pasto vetiver, según Bowen (1979), Baker y Eldershaw (1993)

En nueve recipientes plásticos con capacidad de 5 litros se establecieron 45 plántulas, distribuidas en una densidad de 5 plántulas de vetiver de tres meses de edad por cada recipiente, estas se encontraban previamente adaptadas a condiciones hidropónicas flotantes.

Se escogieron al azar tres concentraciones inferiores a 1 gr/l (0.006 mg/l, 0.050gr/l y 0.60 mg/l) respectivamente para cada color (verde, rojo y azul) de recipiente. Mediante observaciones diarias se le realizó seguimiento al comportamiento de la especie sometida a las diferentes concentraciones de HgCl₂, describiéndose de manera general las respuestas culturales y fisiológicas presentadas.



Foto 15. Pruebas piloto de fitotoxicidad



Foto 16. Desarrollo normal en presencia de pequeñas concentraciones al azar de HgCl₂



Los mecanismos de tolerancia varían entre las distintas especies de plantas y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción, traslocación y secuestro. Las fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes¹¹⁶

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica (Navarro-Aviño, 2007).

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas. (Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos. Las metalotioneínas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu)¹¹⁷.

¹¹⁶ (Navarro-Aviño, (2007):

¹¹⁷ http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icap/LI_IntGenAmb/Otilio_Sando/1.pdf FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN



Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola.

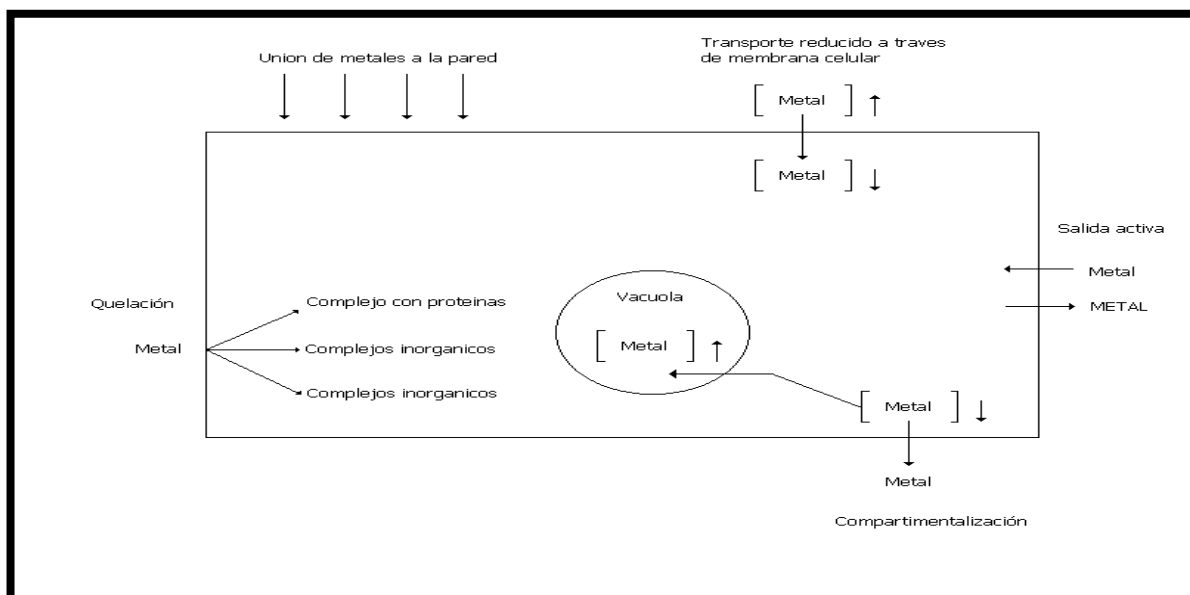
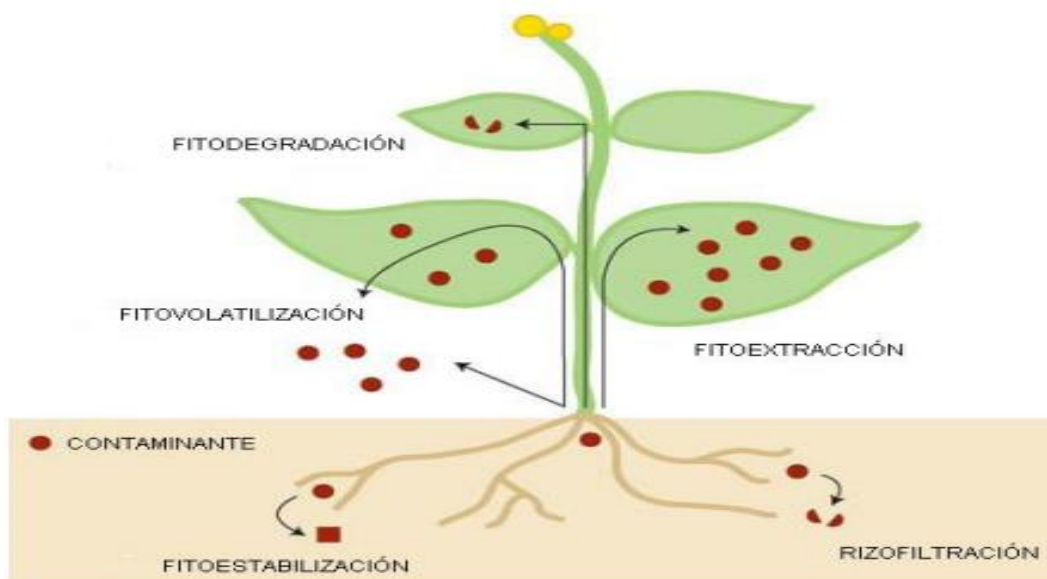


Figura 5. Esquema mecanismo de tolerancia¹¹⁸

¹¹⁸ Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas J.P. Navarro-Aviñó, I. Aguilar Alonso, J.R. López-Moya Departamento de Biología Vegetal. Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera. Ecosistemas 16 (2): 10-25. Mayo 2007 <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=488>



6.3 MODELO DE RIZOFILTRACION EXPERIMENTAL A ESCALA LABORATORIO

6.3.1 Rizofiltración¹¹⁹ utiliza las plantas para eliminar del medio hídrico contaminantes a través de la raíz (Dushenkov et al., 1995). En la rizofiltración estas plantas se cultivan de manera hidropónica. Cuando el sistema radicular está bien desarrollado, las plantas se introducen en el agua contaminada con metales, en donde las raíces los absorben y acumulan. A medida que las raíces se van saturando, las plantas se cosechan y se disponen para su uso final (Nedelkoska y Doran, 2000; Eapen et al., 2003; Cherian y Oliveira, 2005).

Existe una gran cantidad de estudios relacionados con la capacidad de acumulación de contaminantes de diversas plantas acuáticas, algunos ejemplos de ellas son: *Scirpus lacustris* (Cd, Cu, Pb, Mg, Fe, Se, Cr), *Lemna gibba* (Pb, As, Cu, Cd, Ni, Cr, Al, Fe, Zn, Mn), *Azolla caroliniana* (Hg, Cr Sr, Cu, Cd, Zn, Ni, Pb, Au, Pt), *Elatine trianda* (As), *Wolffia papulifera* (Cd), *Polygonum punctatum* (Cu, Cd, Pb, Se, As, Hg, Cr, Mn) y *Myriophyllum aquaticum*, *Ludwigina palustris* y *Mentha aquatic* (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni) (Zhao y Duncan, 1998; Boniardi et al., 1999; Fogarty et al., 1999; Antunes et al., 2001; Groudeva et al., 2001; Cohen-Shoel et al., 2002; Suseela et al., 2002; Quin y Terry, 2003; Zheng et al., 2003; Bennicelli et al., 2004; Chandra y Kulshreshtha, 2004; Kamal et al., 2004; Maleva et al., 2004; Weis y Weis, 2004; Mkandawire et al., 2005; Vardanyan y Ingole, 2006; Dilek, 2007; Li et al., 2007).

¹¹⁹ http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icap/LI_IntGenAmb/Otilio_Sando/1.pdf



6.3.2 Sistema Experimental Rizofiltración



Foto 17. Cubetas en vidrio con capacidad de 20 L previamente desinfectadas



Foto 18. Llenado de cubetas con agua potable embasada



Foto 19. Cubetas con el mismo nivel de agua potable



Foto 20. Adecuación de estructuras flotantes pre-siembra de material vegetal



6.3.2 Desarrollo y Crecimiento en presencia de $HgCl_2$

La sensibilidad de las especies a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y *phyla*, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes (Rosa *et al.*, 1999). Las diferentes respuestas de las plantas vasculares a metales pesados pueden ser atribuidas a factores genéticos, fisiológicos; así como a las rutas toxicológicas y de destino ambiental de los tóxicos (Calow, 1993). El Hg alcanza sus mayores solubilidades en ambientes muy bien oxigenados (350 a 400 mV) (Adriano, 2001; Summers & Silver, 1978).



Foto 21. Crecimiento de raíces en presencia de $HgCl_2$



Foto 22. Desarrollo y crecimiento

presencia de $HgCl_2$



6.3.2.1 Respuesta Eco toxicológicas¹²⁰

Constituye un aporte original al conocimiento de mecanismos de acción de contaminantes en plantas vasculares, estableciéndose los umbrales de respuesta y niveles de daño en distintos parámetros, frente a la exposición a diferentes concentraciones de metales como lo plantea (Environment Canada, 1999a; Castillo, 2004).

Este conocimiento además permite establecer potenciales aplicaciones, ya sea como especies sensibles en bioensayos de toxicidad o, para el caso de las especies tolerantes, en procesos de bioremediación como bioacumuladoras de metales

La ecotoxicología aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayos biológicos estandarizados (bioensayos de toxicidad) que puedan ser utilizados como herramientas de diagnóstico y predicción temprana que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y sirvan de guía a las entidades reguladores para la toma de decisiones, además de su aplicación en la evaluación de riesgo ecológico de los efectos adversos de las actividades antrópicas en ambientes naturales¹²¹

Si bien los requisitos de los ensayos ecotoxicológicos fueron aprobados en el año 1999, son estos mismos los que rigen en la actualidad para el registro de productos fitosanitarios (Gelosi, 2009), en países como Canadá, existen pautas y protocolos específicos para la evaluación del efecto de pesticidas en especies vegetales (Boutin et al., 1993; Boutin et al., 1995), en los que se considera el efecto en algas y en plantas vasculares, considerando ensayos con especies nativas silvestres o de interés agronómico, tanto acuáticas como terrestres, evaluando la fitotoxicidad en diferentes puntos

¹²⁰ <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Ecotoxicol.htm> Ecotoxicología

¹²¹ Suter, 1993; Environment Canada 1999a, Castillo, 2004).



finales: germinación, elongación de la raíz y crecimiento. En los EEUU, la FIFRA (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act), es el organismo de regulación que establece los protocolos y procedimientos de aplicación de bioensayos de toxicidad necesarios para el registro de pesticidas, incluyendo en estos ensayos la evaluación de la fitotoxicidad (Lewis, 1995; Wang & Freemark, 1995; USEPA, 1996).

6.3.2.2 Respuestas Ecotoxicológicas del Vetiver al Estrés

El Vetiver mostró síntomas irrelevantes de estrés por metales pesados en la producción de biomasa, el contenido de clorofilas, incluso si el $HgCl_2$ se introdujo a una concentración alta (1.gr/L) durante 4 semanas (Foto 23). La clorosis, la reducción de la eficiencia fotosintética y el retraso del crecimiento se han observado frecuentemente en las plantas que crecen en ambientes contaminados con mercurio (Patra & Sharma, 2000) sin embargo para el caso particular de este experimento las condiciones proporcionadas a la especie son extremas ya que no cuenta con nutrientes para su desarrollo, el pH marco un valor de 3.5 lo que demuestra que es capaz de sobrevivir en condiciones extremadamente acidas e incluso se supone que puede actuar como agente neutralizador. La mayoría de los metales pesados son poco solubles a pH alcalino o neutro, mientras que en condiciones levemente ácidas se encuentran en mayor proporción en sus formas iónicas libres, aumentando así la disponibilidad para la biota y su peligrosidad. En general, la concentración de metales en los sedimentos es mayor a la de la columna de agua, constituyendo un reservorio de contaminantes. Por procesos biológicos y fisicoquímicos, los metales concentrados en los sedimentos, pueden redisolverse a la columna de agua, constituyendo de esta manera una fuente continua de metales durante mucho tiempo aunque no exista un ingreso externo al



cuerpo de agua. Por otra parte, por medio de muchos efluentes industriales y líquidos cloacales, se incorporan a los cuerpos de agua gran cantidad de metales pesados complejados con diferentes sustancias. De esta manera, los metales tienen menor toxicidad que las formas iónicas libres, pero el peligro está en que los cambios en las condiciones del medio y distintos procesos biológicos degradan los complejos liberando los metales y haciéndolos biodisponibles. No obstante, su efecto tóxico puede ser amortiguado por la complejación con sustancias húmicas y fúlvicas del propio cuerpo de agua receptor (Gerzabek & Ullah, 1990a; Gerzabek & Ullah, 1990b; Ullah & Gerzabek, 1991; Laws, 1993; Porta & Ronco, 1993; Tölgyessy, 1993; Newman & Jagoe, 1996; Manahan, 2007).



Foto 23. Respuestas Ecotoxicológicas del pasto vetiver al estrés

En plantas acuáticas sumergidas (Patra & Sharma, 2000) los metales pesados pueden sustituir fácilmente el átomo central de las clorofilas, y las clorofilas así substituidas son inestables e incapaces de emitir fluorescencia, medida como F_s , o fluorescencia de estado estable.

Sin embargo, no se observa una reducción significativa ni en el crecimiento ni en el contenido de clorofilas del Vetiver tratado durante 30 días con una



concentración máxima de HgCl_2 (1 gr/L) esto se puede comparar con lo referido por (Jana, 1987) quien estudio lo cambios fisiológicos y bioquímicos especies de plantas acuáticas producidos por Hg y Cr. De acuerdo con esto, aunque detectamos algún signo de clorosis, no encontramos evidencia de reducción del crecimiento o de Fv/Fm en nuestras condiciones experimentales.

Beauford et al (1977) encontró que 5000 $\mu\text{g/L}$ de mercurio como HgCl_2 , inhibió el crecimiento de la mayoría de las plantas (*Pisum sativum* y *Mentha spicata*) y afectó procesos fisiológicos y biológicos en las plantas. Más recientemente, plantas jóvenes de *Pennisetum typhoideum* (cultivo de cereal), *Medicago sativa* (cultivo de pasto) y *abelmoschus esculenuts* (cultivo de 2verduras) mostraron toxicidad al mercurio a 10 $\mu\text{g/L}$ de Hg, como HgCl_2 en un cultivo de nutrientes (Marte and Chaphekar, 1984)



Foto 24. Sin rasgos de turbiedad después de 30 días

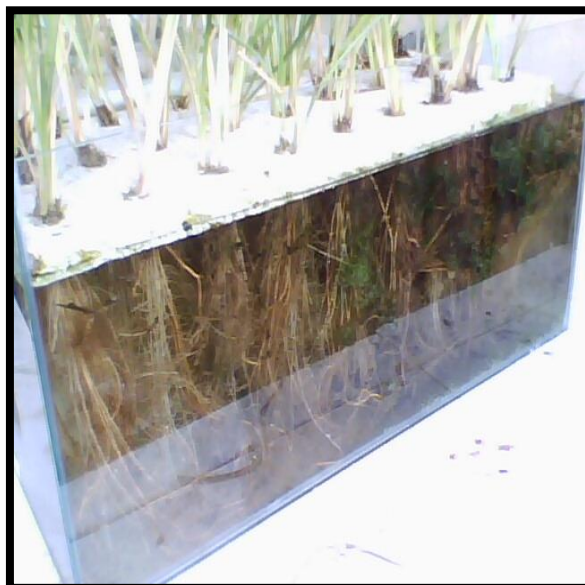


Foto 25. Presencia de Fitoplancton en el lado que recibe luz directa



6.3.3 Influencia del pH en la Remoción de Metales

El pH de las soluciones de cloruro de mercurio fue ácido medido con tiras reactivas lo que se asumió como respuesta indicadora de la presencia de la sustancia toxica (HgCl_2) diluida.

La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido; el pH, es un parámetro importante para definir la movilidad del catión, debido a que en medios de pH moderadamente alto se produce la precipitación como hidróxidos.

Para esta experiencia hemos hablado de un posible método de presencia ausencia como estrategia rápida de monitoreo del metal, lo que también se soporta con las teorías fisiológicas, bioquímicas y del diagnóstico de síntomas ecotoxicológicos de los que se pueda deducir movimiento del metal; lo cuales resultan ser muy variables de una especie a otra.

Una las condiciones que facilito postular este experimental método deductivo fue el hecho que la solución solo estaba contenida por agua y cloruro de mercurio; tales condiciones son extremas para cualquier planta, la cual tras de estar expuesta a un metal toxico no contaba con ninguna fuente de nutrientes. Al no existir más nutrientes dentro de la solución se podía tener un control absoluto del comportamiento de la sustancia (Presencia/ausencia) en particular con relación al ph. La adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo y por tanto, también su solubilidad. Para este experimento se tomó como parámetro de monitoreo el supuesto de que el mercurio puede ser absorbido a través de las raíces¹²²

¹²² El Mercurio y sus componentes son absorbidos por las plantas principalmente a través de sus raíces. En general, hay una tendencia a que el mercurio se acumule en las raíces con limitado intercambio entre el suelo y la parte aérea de la planta (Hogg et al., 1978 a, b; Gracey and Stewart, 1974 a,b; Beauford et al., 1977; Fang, 1978)



Las plantas pueden contribuir al retiro del metal actuando como filtro para absorber algunos metales de rastro. "Las especies de macrophyte con grandes áreas superficiales de plantas han demostrado ser muy eficaces en las partículas de retención del hidróxido del metal que se han precipitado fuera de la solución " (Kadlec et al., 2000) ;

Los metales son solubles en agua, pero son más solubles a pH ácidos. La disponibilidad y estabilidad del mercurio y compuestos de mercurio en sistemas suelo-planta agua están en función del pH, texturas que incluyen tipo arcilla, contenido de materia orgánica, contenido de humedad del suelo, potencial óxido-reducción, y la forma del mercurio¹²³

Sin embargo, la materia orgánica es el más efectivo sorbente natural para el mercurio en suelos ácidos (pH < 4), considerando que óxidos de hierro y minerales arcillosos podrían llegar a ser más efectivos sorbentes a altos pH (> 5,5) (Anderson, 1979)

En condiciones normales el efecto del pH afectaría la viabilidad de la planta, debido a que las enzimas que forman parte de la planta no toleran pHs bajos, ya que los mecanismos celulares de vital importancia se ven afectados por altas concentraciones de iones hidronio (Pankit & Bhave, 2002; Shiny *et al.*, 2004)

La influencia del pH en la asimilación de los diversos elementos en las plantas es bastante conocida para el caso de los macro y micro nutrientes, habiéndose determinado rangos de pH entre los cuales la solubilidad aumenta o disminuye;

¹²³ Adriano, 1986)



en cambio para el caso de los elementos tóxicos los estudios no han sido detallados.¹²⁴

Blanco et al. (2005) y Navarro et al. (2006A) determinaron el rol del pH en un proceso similar, encontrando que el pH ejerce un fuerte efecto en la formación de iones complejos del metal en solución acuosa, los cuales presentan diferentes ligandos que modifican la acidez y morfología del metal en solución.

El efecto del pH afecta la viabilidad de la planta, debido a que las enzimas que forman parte de la planta no toleran pHs bajos, ya que los mecanismos celulares de vital importancia se ven afectados por altas concentraciones de iones hidronio (Pankit y Bhave, 2002, Shiny et al., 2004).

Es de suma importancia resaltar que el efecto del pH parece ser el más importante sobre la absorción de metales. Los tratamientos comunes de remoción se basan en la precipitación como sulfuro, el intercambio iónico, la adsorción, la coagulación y la reducción. El potencial redox permite la reducción fotocatalítica, y el metal puede recuperarse por tratamiento con agua. También se ha propuesto un proceso de recuperación del mercurio metálico de la superficie del catalizador por evaporación (Lau *et al.*, 1998).

Otro aspecto importante a la hora de analizar la variación del pH obtenida después de 30 días del bioensayo también puede ser atribuido a fenómenos fotocatalíticos. En coherencia con lo que se supone, la revisión de literatura sugiere que la transformación fotocatalítica de Hg(II) depende fuertemente de la naturaleza de la sal mercúrica y del pH.

¹²⁴ Torres et al. / Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 3 (1): 13-20, 2007



La remoción de $HgCl_2$ es muy eficiente a pH 4.6, y va acompañada con una disminución del pH, de acuerdo con la estequiometría de la ecuación¹²⁵ $Hg(II) + H_2O \rightarrow 2H + \frac{1}{2} O_2 + Hg(0)$

Tanto a pH 0 como a pH 7, los huecos reoxidan y redisuelven el mercurio; la adición de un atrapador de huecos como el metanol ocasiona el depósito completo de Hg(II) sin redisolución. La remoción de metales por la técnica fotocatalítica heterogenea es un procedimiento valioso que puede aún mejorarse mucho. Para garantizar el éxito del método, deben tenerse en cuenta factores como el pH, la especiación del ion metálico, la presencia de oxígeno y la naturaleza del semiconductor.

En el caso del nitrato mercúrico, la máxima velocidad de remoción tiene lugar a pH alcalino (10,3 – 11, 2). Resultados recientes con $Hg(NO_3)_2$, $Hg(ClO_4)_2$ y $HgCl_2$ confirman la máxima reducción a pH 11, pero el cloruro también se deposita bien a pH 7. Para esta investigación podríamos deducir que la neutralidad del pH se debe a la reducción del metal por acción de los fenómenos de fotocátalisis solar y la remoción biológica (extracción por la planta).

Las posibles rutas de adsorción podrían ser:

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica (Navarro-Aviño, 2007).

¹²⁵ (Serpone et al., 1987)



Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas.

Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos.

Las metalotioneinas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu.

Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Lo expuesto en el documento se plantea que la especie *Vetiveria zizainoides* es una planta detoxificante, apropiada para tolerar y remover altas concentraciones de mercurio en condiciones controladas y estáticas.

La especie pudo sobrevivir en un ambiente acuático estático sin ningún tipo de nutriente y sin recambio de agua lo que genera innumerables inquietudes sobre los asombrosos mecanismos eco-fisiológicos y moleculares de la misma y lo que se convierte en un nuevo objeto de investigación.

La solubilidad y disponibilidad de los metales para las plantas depende de varios factores, estos pueden ser tanto físicos como químicos, entre los que se encuentran la concentración en la que están presentes, su especiación o estado de oxidación, la acidez o alcalinidad del suelo donde crecen, entre otros; siendo determinantes en los procesos de absorción de nutrientes y contaminantes en las plantas

Después de esta investigación de tipo exploratorio se construyó un modelo teórico- práctico inicial para el proceso de rizofiltración de mercurio con la especie *Vetiveria zizainoides*, basándose en diagnósticos ecotoxicológico cuyo principal variable cualitativa tomada en cuenta fue la supervivencia de la especie expuesta a las diferentes concentraciones toxicas letales y extremas.

Según el análisis de teoría planteadas en el documento las raíces de la especie después de un tiempo determinado y asociado a fenómenos fotocatalíticos pueden provocar la remoción de contaminantes como el mercurio en un ambiente liquido estático, esta tesis se soporta en diferentes teorías como las relacionadas con la capacidad de las plantas para absorber y tolerar metales, la relación del pH con la presencia de metales en un medio y las reacciones fotocatalíticas.

Se reconoce que el camino es largo para establecer un modelo con características de replicabilidad, por eso esta investigación constituye un aporte para el



conocimiento y dominio de la temática en cuestión. Existe una gran cantidad de teorías que pueden sacarse a la luz para construir modelos que posteriormente puedan ser corroborados y confrontados por los métodos de investigación usuales con mayor grado de precisión; en este trabajo no se trata de sustituirlos, ni de restarles importancia se trata de evaluar métodos poco convencionales que también ofrecen opciones en circunstancias donde no se cuenta con los instrumentos convencionales de medición y apoyo; acudiendo al principio de sistematicidad de la ciencia el cual se refiere a la conexión racional de los enunciados entre sí y de estos con las teorías establecidas

A pesar del gran desarrollo de metodologías analíticas y la avanzada tecnología instrumental disponible en la actualidad para el monitoreo físicoquímico de efluentes y cuerpos de agua receptores, este enfoque, aunque muy valioso, sólo permite identificar y cuantificar los diferentes constituyentes descargados en el sistema (APHA-AWWA-WEF, 1998; Manahan, 2007).

Estimar los efectos en la biota basándose exclusivamente en este tipo de datos es incompleto por diferentes razones. Por un lado, conocer la composición química de un efluente no proporciona información sobre sus efectos biológicos en el cuerpo de agua receptor. Por otra parte, cuando una sustancia se incorpora en un sistema acuático, las reacciones químicas que puedan ocurrir al producirse esta mezcla pueden modificar significativamente la biodisponibilidad de la sustancia, aumentando o disminuyendo su toxicidad. Para el caso de mezclas de diferentes compuestos, no es posible predecir su toxicidad, aun conociendo las toxicidades de sus componentes individuales, dada la posibilidad de que se generen efectos sinérgicos, aditivos o antagónicos de los contaminantes en los sistemas vivos. Todo esto sin considerar que monitorear todos los constituyentes en un efluente o cuerpo de agua superficial puede implicar costos elevados además de su baja practicidad (Burton, 1990; Cairns & Mount, 1990; Newman & Jagoe, 1996; Castillo, 2004)



Lo que se plantea de una manera casi que soñadora es la posibilidad de encontrar estrategias simples, sencillas, ecológicas y económicas basadas en teorías ya existentes, que puedan simplificar muchos procedimientos en el desarrollo de investigaciones tan urgentes y necesarias como la de encontrar soluciones a la contaminación por mercurio en aguas.

En el futuro se propone realizar análisis físico químico tanto para la solución final después del bioensayo como para la biomasa vegetal para establecer las respectivas variables dentro del proceso de rizofiltración.

Aunque la presente investigación concluye que la planta fue capaz de estabilizar el pH de la solución según las analogías propuestas mediante análisis deductivos, se recomienda analizar las reacciones fotocatalíticas con un mayor grado de profundidad ya que estas puede provocar efectos similares en la estabilización del pH. Finalmente se corrobora lo que manifiesta la literatura al afirmar que el pH es considerado como uno de los principales aspectos a considerar en la adsorción de metales, en este caso, este influye principalmente en la especiación química del ion mercurio en la solución acuosa. Los cuales condicionan la acidez y su química de coordinación



8. BIBLIOGRAFIA

Adriano, D.C. 1986. Mercury. Trace elements in the territorial environments. 2nd Edition. Springer. New York, EEUU, p.p 411-458

Adriano, D.C. 2001. Tolerance elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals chapter 11: Mercury, pp. 411-458 Ed. Springer

Auve, S., W. Henderson & H. E. Allen. 2000. Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. Environ. Sci. Technol., 34:1125–1131.

ANZ. 1992. Australian and New Zealand Guidelines for the Assessment and Management of Contaminated sites. Australian and New Zealand Environment and conservation Council, and National Health and medical Research council, January 1992

Atilio De la Orden, E. Contaminación, 2008.

Baker A.J.M., McGrath S.P., Reeves R.D. & J.A.C. Smith. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: (Eds. Terry N, Bañuelos and G. Vangronsveld J.). Phytoremediation of contaminated soil and water. Boca Raton, Florida, USA, Lewis Publishers, 85 107.

Blanco D., Llanos B., Cuizano NA., Maldonado H & Navarro AE. 2005. Optimización de la Adsorción de Cadmio divalente en Lessonia trabeculata



mediante reticulación de CaCl_2 . Revista de la Sociedad Química del Perú, 71: 237-245.

Boening, D.W. 2000. Ecological effects, transport and fate of Mercury: A general review. Chemosphere, 40: 1335-1351

Brooks RR., Morrison RS., Reeves RD. & Malaisse F. 1978. Cooper and Cobalt in african species of *Aeolanthus* Mart. (*Plectranthinae*, *Labiatae*). Plant and Soil, 50: 503-507.

Carrasco, S. & Millán, R. 2008. Influencia de la adición de fertilizantes y enmendantes orgánicos en suelos contaminados por mercurio. Informes técnicos del CIEMAT. N° 1153

Claudia X. Ramos, Sandra L. Estévez & E. Giraldo. Nivel De Contaminación p por metilmercurio, En: La Región de La Mojana Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. Bogotá. Colombia. 2000.

Constantinou, E., Gerath, M., Mit Chell, D., Seigneur & C. Y Levin. 1995. Mercury from power plants: a probabilistic approach to the evaluation of potential health risks. Water, Air & Soil Pollution, 80: 1129-1138

Calow .P.1993. Handbook of ecotoxicology. VoLI .478P.blackwell science Ltd., London, England. Wwwwscielo.Cl

Deacon,JR. & Driver, NE. 1999. Distribution of trace elements in streambed Sediment associated with mining activities in the upper Colorado River Basin, Colorado, USA, 1995-96. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 37: 7-18.



Doadrio Villarejo, A.L. 2004. Ecotoxicología y acción toxicológica del mercurio. Real Academia de Farmacia. Disponible en: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/41/122/41122006.pdf

Diaz-Báez, M.C., Bustos, M.C. & Espinosa. A.J. 2005. Pruebas de toxicidad acuática: fundamento y métodos Bogotá . universidad Nacional de Colombiag. 118P

Dushenkov, V., Kumar, P. B., Motto, H. & Raskin, I. 1995. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. Environmental Science & Technology. 29:1239-1245.

Dushenkov V. & Raskin I. 2000. Phytoremediation: Green revolution in Ecology. Agro XXI, 9:19-20.

European Federation of Biotechnology 1988. Definition of biotechnology. EFB Newlestter September, N° 5, pg.2

Ferrara, R., Maserti, B. E. & Y. Breder (1991) Mercury in abiotic and biotic compartment of and area affected by a geochemical anomaly (Mt. Amiata). Water, Air and Soil Pollution, 56: 219- 223

Garbisu C., Hernández-Allica J., Barrutia O., Alkorta I. & Becerril, J.M. 2002. Phytoremediation: a technology using green plants to remove contaminants from polluted areas. Reviews on Environmental Health, 17, 3: 173-188.



García, I. and Dorronsoro, C. 2005. Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Disponible en: <http://edafologia.ugr.es>.

Harvey, P. J, Campanella B. F, Castro P. M. L, Harms H, Lichtfouse E, Schäfer A.R, Smrcek S. & Werck-Reichhart D. 2002. Phytoremediation of polyaromatic Hydrocarbons, Anilines and Phenols. Environmental Science and Pollution Research, 9: 29 – 47.

Patra, M., Scharma. A. 2000. Mercury toxicity in plant. The Botanical Review, 66 (3): 379-421.

Hogg, T.J., Steward, W.B. & Bettany, J.R. 1978. Journal of Environmental Quality, 7: 440- 450.

Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. I. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses, 2 ed. Academic Press, New York.

Hengchaovanich, D. y Nilaweera, N. 1996. An assessment of strength properties of vetiver grass sods. In relation to slope stabilization. Proceedings of the first international conference of vetiver. Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok.

Jana, S. 1988. Accumulation of Hg and Cr by three aquatic species and subsequent changes in several physiological and biochemical plant parameters. Water, Air & Soil Pollution

Jensen, D.L.; Holm, P.E.; y Christensen, T. H (2000). Soil and Ground Water Contamination with Heavy metals at two scrap iron and metal recycling facilities waste management



Larcher, W. 1987. Stress bei Pflanzen. Naturwissenschaften, 74: 158-167,

Lichten, Thanler & H.K., U Rinderle. 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry

Mejía R. 1997. Diseño, restauración y rehabilitación de cauces con materiales naturales, Tesis especialización. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México D.F. (México).

McGrath, S. P, Lombi, E., Zhao, F. J., & Dunham, S. J. 2001. Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation Versus Chemically Enhanced Phytoextraction. Journal of Environmental Quality, 30 (6): 1919-1926.

Mkandawire M., Taubert B., & Dudel EG. 2004. Capacity of *Lemna gibba* L. (duckweed) for uranium and arsenic phytoremediation in mine tailing waters. International Journal of Phytoremediation, 6, 4: 347-362.

Merkel, N. R, Schultze-Kraft & C. Infante. 2004. Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soils in the Tropics - Pre-Selection of Plant Species from Eastern Venezuela. Journal of Applied Botany and Food Quality, 78 (3):185-192

Navarro AE., Blanco D. Llanos B., Flores J. & Maldonado H. 2004. Bioremediación de Cadmio (II) por desechos de algas marinas. Optimización del Equilibrio y Propuesta de Mecanismo. Revista de la Sociedad Química del Perú, 70: 147-157.



Navarro AE., Ramos KP., Campos K. & Maldonado H. 2006A. Elucidación del Efecto del pH en la Adsorción de Metales pesados mediante Biopolímeros naturales: Cationes Divalentes y Superficies Activas. Revista Iberoamericana de Polímeros, 7 (2): 115-128.

Navarro AE., Ramos KP., Agapito R. & Cuizano NA. 2006B. Propiedades ácido-básicas de Lentinus edodes y cinética de biosorción de cadmio (II). Revista ¿?

Nriagu J. 1996. A History of Global Metal Pollution. Science, 272: 222-225.

Navarro Aviño, J; Aguilar, I y J. López- Moya, 2007. Aspectos Biolquimicos y geneticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. Ecosistemas 2007/2

Nedelkoska, T. V., Doran, P. M. 2000. Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. Biotechnology and Bioengineering. 67: 607-615.

Nriagu J. 1996. A History of Global Metal Pollution. Science, 272: 222-225.

Serpone, N., K. Ah-you, T.P. Tran, R. Harris, E. Pelizzetti & H. Hidaka, sol. Energy., 39: 491-498.

Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 2: 45-52.

Odjegba VJ. y Fasidi IO. 2004. Accumulation of Trace Elements by *Pistia stratiotes*: Implications for phytoremediation. Ecotoxicology, 13: 637-646.



Pankit AN., Bhave SA. 2002. Cooper metabolic defects and liver disease: Environmental aspects. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 17, 3:S403-S407.

Pantoja Timarán, F. 1999. Tesis Doctoral. UAM-E.T.S.I. de Minas de Madrid, España.

Pineda, H. R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de glomus intraradices en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus* L.) Crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis Doctoral en Ciencias Universidad de Colima. México

Ramos C., Estévez S, L., Giraldo E. 2000. Nivel de contaminación por metilmercurio en la región de la Mojana. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental (CIIA). Universidad de los Andes. Bogotá (Colombia).

Ramos KP., Navarro AE, Chang L. & Maldonado H. 2004. Evaluación de nuevos biosorbentes para la remoción de cadmio (II): Estructura vs Capacidad de adsorción. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 70: 137-146.

Raskin I., Kumar N., Dushenkov V. and Salt DE. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 5: 285-290.

RLAV. 1999. Video "Vetiver barrera para la bioingeniería, RLAV ¿? vol 1". Arte Digital E-mail: arte_digital@yahoo.com Telef.: (506) 253.4402



Rosa, C.E.V., Sierra. M. & Rdetski, C. M. 1999. Use of plant tests in the evaluation of textile effluent toxicity. Effluent toxicity. Ecotoxicology Environmental Reseqrch, vol. (num.)

Salt DE., Kumar N., Dushenkov V. & Raskin I. 1994. Phytoremediation: A new technology for the environmental cleanup of toxic metals. In: Resource Conservation and Environmental Technologies in Metallurgical Industries. Proceedings of the International Symposium on Resource Conservation and Environmental Technologies in Metallurgical Industries. P. Mahant, C. Pickles and W.-K. Lu (eds.) Canadian Institute of Mining: 381-384.

Salt DE., Blaylock M., Kumar N., Dushenkov, V., Ensley BD., Chet I. & Raskin I. 1995. Phytoremediation: A novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. Biotechnology, 13: 468-474.

Scavo,K.M. 2004. Estudio de un sistema de tratamiento de aguas residuales complementario con pasto vetiver (*Vetiveria zizanioides* L) provenientes de una planta de producción de gaseosas en Villa de Cura. Aragua. Venezuela. Tesis de Maestría en Ing. Agrícola. Fac. Agronomía. UCV. Maracay (Venezuela), 71 p

Schuster, E. (1991) The behaviour of mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes. A review of the literature. Water, Air and Soil Pollution 57: 667-680

Shiny KJ., Remani KN., Jalaja TK. y Sasidharan VK. 2004. Removal of Chromium by two aquatic pteridophytes. Journal of Environmental Science and Engineering, 46, 3: 249-251.

Siegel, S.M. Y Siegel, B.Z. (1998). Water, Air and Soil Pollution, 40: 443-448



Singh, O.V., S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja & R.K. Jain. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination From Soil. Applied Microbiology and Biotechnology. 61: 405-412.

Spain, A. 2003. Implication of microbial heavy metal tolerance in the environment reviews in undergraduate research 2, 1 -6

Stoker 1932-1956 Dieabhangkeit des tranpirationvon den un wetfaktoren. In: Ruhland, W. (ed). Encyclopedia of plant physiology.vol3.Spring-Verlag, Berlin,

Summers,A.O.,and silver, S., 1978. Microbial Trans formations pof mentals. Ann. Rev. microbiol.32: 637-762

Torres Leedham, Verónica M. & Brando, Omar Alberto. 1981. El mercurio y los Alimentos", Sociedad Argentina de Toxicología, 2: 33 - 37

Truong, P. & D. Baker. 1998. Vetiver Grass System for environmental protection. Tech. Bull. N° 1998/1. Pacific Rim Vetiver Network, Bangkok (Thailandia).

Truong, P. 1999, Introducción a la Tecnología del Pasto Vetiver. Curso Corto sobre Tecnología del Pasto Vetiver para Control de Erosión y Sedimentación, Estabilización de Laderas y Protección Ambiental. Conferencia y Exhibición Asia-Pacífico sobre Bioingeniería de la Tierra y el Agua, Abril 1999.

Torres G, Navarro A.E., Languasco J, Campos K. & Cuizano N.A. 2007 estudio preliminar de la fitoremediacion de cobre divalente mediante pistia stratiotes (lechuga de agua). Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 3 (1): 13-20.

Truong, P. & Hart, B 2001. Vetiver system for waster treatment. Tech. Bull.N° 2001/2. PRVN/ORDPB, Bangkok (Thailand).



Tortorelli, M.C., Dimarzio, W., Sáenz, M. & Alber, D. I. J. 1994. Ensayos Ecotoxicológicos con organismos acuáticos para la evaluación de la contaminación ambiental. Curso de postgrado. Universidad Nacional de Lujan Argentina. Departamento de Ciencias Básicas Laboratorio de Ecotoxicología.

Villegas, A. 2007. Aplicación de la rizofiltración al tratamiento de efluentes, Tesis Ingeniería, Quito (Ecuador): Escuela Politécnica Nacional.

Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. Water Air Soil Pollution, 59:381-400.

Xiao, Z.F., Munthe, J., Schroeder, W.H. & Lindquist, O. 1991. Tellus 43B: 267-279.

Zhang, Q., Davis, L. C. & Erick, L. E. 2000. Heavy Metal. In: Hazardous Substance Res., 2 (4):1



ANEXO

FICHA DE REGISTRO Y OBSERVACIONES DIARIAS DURANTE EL ENSAYO FITOTOXICO			
Día Nº	CARACTERISTICAS		pH Condiciones iniciales
1	T3.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	Acido Acido Básico
	T2.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
	T1.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
2	T3.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
	T2.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
	T1.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
3	T3.	Algunos síntomas de clorosis sin mayor grado de significancia	
	T2.	Algunos síntomas de clorosis sin mayor grado de significancia	
	T1.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
4	T3.	Algunas hojas presentan síntomas de clorosis y marchitez	
	T2.	Alguna hojas presentan síntomas de marchitez	
	T1.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
5	T3.	Algunas hojas presentan síntomas de clorosis y marchitez	
	T2.	Alguna hojas presentan síntomas de marchitez	
	T1.	Estado normal, la unidad de ensayos permanece estable	
6	T3.	Algunas hojas presentan síntomas de clorosis y marchitez	
	T2.	Alguna hojas presentan síntomas de marchitez	
	T1.	La unidad de ensayos permanece estable, se evidencian cambios de color en algunas hojas	
Nº	CARACTERISTICAS		



7	T3.	Marchitez total de algunas hojas
	T2.	Marchitez total de algunas hojas
	T1.	Alguna hojas presentan una leve clorosis
8	T3.	Marchitez total de algunas hojas
	T2.	Marchitez total de algunas hojas
	T1.	Alguna hojas presentan una leve clorosis
9	T3.	Marchitez total de algunas hojas
	T2.	Marchitez total de algunas hojas
	T1.	Alguna hojas presentan una leve clorosis
10	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
11	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
12	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
13	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes



	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
14	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
15	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
16	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
17	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
18	T3.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	Marchitez definida en algunas hojas, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T1.	A pesar de la clorosis se evidencia aparición de brotes
19	T3.	, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes
	T2.	, clorosis disminuye y aparecen indicios de brotes



	T1.	evidencia aparición de brotes
20	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
21	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
22	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
23	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
24	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
25	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes
26	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes



27	T3.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T1.	Clorosis estable , Desarrollo y crecimiento de brotes	
28	T3.	Clorosis estable, Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T2.	Clorosis disminuye y Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes	
29	T3.	Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T2.	Desarrollo y crecimiento de brotes	
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes	
		pH Condición Final	
30	T3.	Desarrollo y crecimiento de brotes	Básico
	T2.	Desarrollo y crecimiento de brotes	Básico
	T1.	Desarrollo y crecimiento de brotes	Básico



