

Protocolo para Proyecto de Investigación 2014

Título del proyecto

Identificación de plantas nativas con potencial para la fitorremediación de metales pesados en desechos mineros

Introducción

La tierra ha sido degradada y contaminada continuamente por la actividad humana. La utilización de los recursos naturales de nuestro planeta es fundamental para la sobrevivencia y prosperidad de la sociedad. Sin embargo, la remoción de los recursos de un ambiente a otro para su utilización, impacta hasta cierto punto a ambos. Los desechos de las actividades mineras es uno de los mejores ejemplos. Estas actividades incontroladas generan una gran cantidad de emisiones de partículas y desechos que contienen metales pesados y metaloides que pueden contaminar el entorno: suelo, agua y aire (1-2).

En México, la minería y la fundición de minerales han generado altas concentraciones de contaminantes en el medio ambiente, pero el impacto ambiental de los residuos no han sido evaluados completamente, se han realizado varios estudios para evaluar las concentraciones de los contaminantes en donde la explotación de minerales como la plata, el plomo y el zinc empezó en el siglo XVI (3).

Los metales son un constituyente natural de la litosfera, cuyos ciclos geoquímicos y bioquímicos y sus balances han sido alterados drásticamente por la actividad humana (4). Los metales pesados son contaminantes inorgánicos que no pueden degradarse, pero que pueden estabilizarse en formas menos biodisponibles en los suelos o ser extraídos de estos (5).

El impacto de las actividades mineras en las regiones áridas y semiáridas de México no ha tenido la suficiente atención como en las regiones templadas. Sin embargo la erosión de los desechos de minas en los ambientes áridos en México se considera riesgosa para las poblaciones aledañas. La estabilidad de los desechos mineros se ve afectada seriamente por un lado, a los procesos de degradación o por situaciones meteorológicas que pueden en algunos casos, resultar en un colapso total de la estructura de los desechos y por otro lado, debido a la liberación de partículas de los desechos que van cargadas de metales y se esparcen a la atmósfera por acción del viento (6).

Uno de los aportes de la biotecnología para remediar ambientes contaminados como el suelo, es el uso de la fitorremediación (7). Memon (8) define la fitorremediación como el uso de plantas y microorganismos asociados para extraer, secuestrar y/o desintoxicar diferentes clases de contaminantes ambientales del agua, sedimentos, suelos y del aire. Existen varias categorías dentro de la fitorremediación dentro de las cuales se encuentra la fitoextracción que consiste en la acumulación de los contaminantes en las partes aéreas de las plantas y la fitoestabilización la cual consiste en la absorción de los contaminantes por las raíces manteniéndolos en la rizófora inmovilizados, o en la acumulación de estos pero sin llegar a las partes aéreas de las plantas evitando así la biodisponibilidad o su lixiviación (9). En áreas con desechos de minas estas estrategias serían de gran importancia para reducir los efectos contaminantes, aunque el desafío de la fitoestabilización es encontrar plantas nativas que tengan un potencial estabilizador y que requieran de un costo mínimo para su establecimiento, como lo son el riego y los fertilizantes, debido a que las áreas mineras se encuentran en lugares alejados por lo tanto el costo del transporte se incrementa y la implementación de los requerimientos se obstaculiza (9). Además las plantas que crecen en estos lugares han demostrado ser tolerantes a las condiciones ambientales locales y han dado lugar a formar una sucesión ecológica (10).

Por la época en que se empezó a operar este proyecto no fue posible terminar con los muestreos de vegetación ya que es necesario hacer muestreo tanto en época de sequía como en época de lluvias, con el objetivo de ver si hay variaciones en el contenido de metales dentro de los tejidos de las plantas perennes. Otro aspecto que falta evaluar es la concentración de los metales en los suelos. Esta situación nos obliga a continuar con este trabajo.

Objetivos

Determinar las concentraciones de metales pesados en los desechos y el suelo de los alrededores de una mina de uranio abandonada.

Determinar las concentraciones de metales pesados en plantas nativas en los alrededores de una mina de uranio abandonada.

Caracterizar el potencial fitoremediador de especies nativas dominantes establecidas en los alrededores de una mina de uranio abandonada.

Hipótesis

Los desechos de una mina abandonada donde se extraía uranio, contienen metales pesados y las especies de plantas nativas establecidas en sus alrededores tienen potencial para la fitorremediación.

Revisión de Literatura

El impacto del ser humano sobre el medioambiente ocurre a diversas escalas tanto temporales como espaciales, los accidentes industriales como los derrames de petróleo, la contaminación industrial, la deforestación y la transformación de los hábitats naturales en suelos agrícolas e industriales, son actividades antropogénicas que alteran el hábitat disponible para muchas otras especies y por lo tanto llevan a una reducción en la biodiversidad. (11).

La contaminación del suelo es una condición de interés mundial, con respecto a sus consecuencias tanto en la salud humana como en la ecológica debido a la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos como los metales pesados (2).

Los oligoelementos (metales pesados y metaloides) son contaminantes ambientales importantes y muchos de ellos son tóxicos aun a muy bajas concentraciones. La contaminación de la biosfera con estos elementos, se ha acelerado dramáticamente desde el comienzo de la Revolución Industrial principalmente por la quema de combustibles fósiles, la minería y la fundición de minerales, así como los desechos municipales, fertilizantes, insecticidas y lodos (8).

La cantidad de metales pesados en los suelos al rededor de las áreas industriales y mineras pueden en efecto, alcanzar concentraciones que son tóxicas para la mayoría de los organismos, por lo que constituyen una gran amenaza para la salud medioambiental, también desorganizan los ecosistemas provocando una drástica reducción de la riqueza de las especies, pero la salud humana también se ve afectada directa o indirectamente cuando el ser humano se expone a dosis tóxicas de metales pesados (5).

En México, la minería y la fundición de minerales han generado grandes cantidades de desechos que no han sido confinados, alterando así, al medio ambiente con altas concentraciones de contaminantes, por lo que el impacto ambiental de tales desechos resulta, por su bajo pH, alto contenido de metales y una alta incidencia de erosión impulsada por el viento y el agua. Se han realizado varios estudios para evaluar las concentraciones de los contaminantes en donde la explotación de minerales como la plata, el plomo y el Zinc, empezó desde el siglo XVI (3, 6).

Los sitios de desechos mineros se ubican por todas las regiones semiáridas del mundo incluyendo Sudáfrica, Australia, Norteamérica, y México. Los productos de desecho procesados de los minerales se regresaban a las minas, se colocaban en riachuelos o lagos adyacentes al sitio, o eran descargados en estanques. Estas prácticas han resultado ser un gran problema. Los metales tales como Cobre (Cu), Hierro (Fe), Zinc (Zn), Níquel, (Ni), Plomo (Pb), Cadmio (Cd) y el metaloide Arsénico (As) están presentes en el material de los desechos mineros en concentraciones que van desde 1 g kg^{-1} a 50 g kg^{-1} en los sitios mas antiguos (10).

Además de los sitios contaminados por la actividad humana, los depósitos naturales de minerales contienen particularmente grandes cantidades de metales pesados y que están presentes en muchas regiones del mundo. Estas áreas frecuentemente sostienen especies de plantas que crecen bien en estos ambientes ricos en metales. Mientras que muchas especies evitan la acumulación de los metales pesados de esos suelos, algunas de esas especies pueden acumular significativamente altas concentraciones de metales tóxicos a niveles que exceden los rangos permisibles en el suelo (8).

La contaminación por metales pesados normalmente coincide con el incremento de la industrialización de una región dada y llega a ser mas severa cuando no hay control o normas ambientales adecuadas (4). La sociedad debe tratar más interesadamente los efectos de las alteraciones químicas radiológicas, biológicas y físicas a las cuales esta sometida, por lo que es necesario que se determine como remediar o restaurar los ecosistemas dañados (12).

Fitorremediación.

La remediación de suelos contaminados con metales pesados basada en métodos de ingeniería relativamente destructiva se ha estimado en un costo aproximadamente de 400 billones de dólares tan solo en los Estados Unidos (13).

Sin embargo se requieren nuevas tecnologías ambientalmente amigables y de procesos a bajo costo(14). La aplicación de la ciencia y la ingeniería para proveer soluciones a los sustratos contaminados que involucran el uso de plantas es ahora de gran importancia (15).

La fitorremediación es una tecnología que se basa en el uso de plantas para descontaminar el suelo, el agua y el aire de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos, donde las especies vegetales tienen la capacidad de acumular los contaminantes aunque esta capacidad varía entre las diferentes especies(16), ya sean plantas silvestres o

genéticamente modificadas para extraer un amplio rango de metales pesados y contaminantes orgánicos del suelo (17).

Ilya Raskin, profesor de biología vegetal en la Universidad de Rutgers en New Jersey acuñó el término fitoremediación y lo definió como el uso de las plantas para la remediación ambiental (7).

Existen diferentes categorías de fitoremediación que son: la fitoextracción, fitoestabilización, fitovolatilización, fitofiltración y fitodegradación, estas diferencias se deben a los mecanismos que utilizan las plantas para remediar (16). Mendez y Maier (9) proponen dos alternativas para la remediación de áreas de desechos mineros, la fitoextracción y la fitoestabilización. La fitoextracción consiste en la acumulación de los metales pesados en las partes aéreas de las plantas teniendo la posibilidad de ser extraídos para su posible reutilización mientras que la fitoestabilización también llamada inmovilización *in situ* y fitorestauración, consiste en establecer una capa vegetal en donde las raíces de las plantas absorben los contaminantes manteniéndolos inmovilizados en la rizósfera o acumulándolos pero sin llegar hasta las partes aéreas de las plantas, evitando así la biodisponibilidad y previniendo su lixiviación (9, 16-19).

Fitoestabilización

Se requieren estudios para identificar especies vegetales que tengan la capacidad de acumular metales pesados y valorar cuáles son las más apropiadas para las diferentes estrategias de fitoremediación, para eso es necesario evaluar en qué parte de la planta desde la raíz hasta las partes aéreas (tallos, hojas, flor, fruto) se acumulan los metales (20).

Las plantas ideales para la estabilización de metales deberán tener un sistema radicular amplio y producir una gran cantidad de biomasa en sus partes aéreas donde la acumulación de los contaminantes deberá ser mínima (21).

El desafío de la fitoestabilización es identificar plantas nativas que no acumulen metales en las partes aéreas y que utilicen el mínimo de requerimientos necesarios para su establecimiento como lo son el riego y los fertilizantes, esto es porque normalmente las áreas mineras se encuentran en lugares alejados por lo tanto el costo del transporte se incrementa y la implementación de los requerimientos se obstaculiza (9). La reforestación es un método útil para el control de la erosión, pero en lugares contaminados con metales resulta difícil realizarla debido a la presencia de factores limitantes como son las deficiencias nutricionales, la pobre estructura del suelo y los efectos ecotóxicos de la misma contaminación; todo esto resulta perjudicial para las plantas (22).

En un estudio realizado por Madejon (22) con la especie *Rosmarinus officinalis* (Romero) concluyeron que esta era capaz de establecerse en suelos moderadamente contaminados y sin correr riesgos al ser utilizada industrialmente, ya que los contaminantes acumulados en las partes aéreas no fueron significativos y se recomendó como planta fitoestabilizadora.

Armienta *et al.* (3) concluyeron que las especies *Prosopis leavigata* (mezquite) y *Acacia farnesiana* (huizache) establecidos en o cerca de los desechos de minas que se encuentran en la zona minera de Zimapán, México, son tolerantes al arsénico y que pueden ser considerados como una buena opción para disminuir la degradación provocada por el viento y el agua así como reducir la dispersión de los desechos contaminantes de las minas.

La vegetación que se encuentra en áreas mineras con desechos son candidatas a ser evaluadas para considerarse especies acumuladoras o estabilizadoras de contaminantes como los metales pesados. En este estudio será de especial interés que las plantas a evaluar tengan potencial para la fitoestabilización.

Procedimiento Experimental

El área de estudio será en la mina de uranio llamada La Preciosa que se encuentra inactiva. Se localiza en las coordenadas 25°20'.703" de latitud norte y a 104°04'.085" de longitud oeste, al suroeste del municipio de Nazas, Durango. El poblado más próximo es el ejido la Perla. El municipio de Nazas, Durango se localiza entre las coordenadas geográficas 25°13' 34" de latitud norte y 104° 06'39" longitud oeste a una altura de 1250 msnm., la superficie territorial es de 2,412.80 km² y cuenta con 33 poblados (23).

Trabajo de Campo

Suelo.

Se realizará un muestreo preliminar del suelo y desechos de el área de la mina en una extensión de aproximadamente 3 hectáreas (la extensión dependerá de la distribución de los desechos mineros) para determinar el contenido de metales pesados (Cd, Pb, As) y su concentración.

El área de estudio se dividirá en 3 estratos, estrato bajo (valle), medio (ladera) y alto (meseta). En cada estrato se obtendrán 10 muestras de suelo (0-15cm de profundidad y 10 cm de diámetro aprox.) ubicadas al azar.

Plantas y suelo de la rizósfera.

Para identificar las especies vegetales así como su abundancia y seleccionar las plantas dominantes se realizará un muestreo en el área de estudio. Se considerarán los mismos estratos para el muestreo de vegetación se utilizará el método de transecto en banda (24-25), y se distribuirán 10 transectos al azar en cada estrato. El tamaño dependerá de la vegetación, en promedio la longitud del transecto será de 10 m de largo por 2 metros de ancho.

Se seleccionarán algunas de las especies dominantes se coleccionarán 3 muestras de cada especie, la planta completa preferentemente si estas son herbáceas, como se menciona en Malik y Franco- Hernandez (26-27), o se harán cortes tanto de tallos, hojas brotes así como de raíz, si estas son arbustos leñosos o semileñosos, considerando que tengan características similares, en cuanto al tamaño y madurez, se tomará también en cuenta el estado de salud aparente de las plantas (28-29). Las muestras de la rizósfera se tomarán de donde se obtengan las mismas plantas muestreadas y la profundidad dependerá a la cual se encuentren las raíces en promedio a los 25 cm (20).

Los análisis tanto del suelo como de las plantas se realizarán en el Laboratorio de suelos de la UAAAN UL, y además se contará con el apoyo del INIFAP ubicado en la ciudad de Matamoros Coahuila.

Las muestras de suelo serán analizadas para determinar la concentración de metales pesados (Cd, Pb y As), según la norma NOM 147-SSA-2004, por medio del Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Las muestras de las plantas se llevarán al laboratorio, se lavarán completamente con agua de la llave para remover cualquier residuo del suelo y polvo, enjuagando dos veces con agua desionizada (26, 30). Se separarán las raíces, tallos y hojas para ser secadas a 70° C en estufa por dos días. Subsecuente las muestras de plantas se triturarán hasta polvo fino. Las muestras de plantas se digerirán con una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico y se analizarán Cd, Pb y As usando un Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS). Las muestras de suelo de la rizósfera se tratarán de la misma manera que las muestras de suelo (30).

Los resultados que se obtengan tanto del análisis de suelos como de las plantas, serán sometidos a análisis de estadística básica que consistirá en obtener la media, desviación estándar, valor mínimo y valor máximo. Asimismo, los resultados serán sometidos a un procedimiento estadístico de análisis de regresión, correlación entre variables y análisis de varianza.

Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Muestreo de suelos	X	X										
Análisis de muestras					X	X	X	X	X			
Muestreo de vegetación		X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Análisis de las muestras de vegetación			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis de muestras de Vegetación					X	X	X	X	X	X		
Procesos estadísticos de los resultados obtenidos				X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análisis estadísticos de los resultados obtenidos				X	X	X	X	X	X	X		
Organización de tesis									X	X	X	
Presentación de tesis									X	X	X	X

5.-Productos esperados

Publicación de artículos científicos, participación en eventos científicos, presentación de tesis

6.-Literatura citada

1. Haque N, Peralta-Videa JR, Jones GL, Gill TE, Gardea-Torresdey JL. Screening the phytoremediation potential of desert broom (*Baccharis sarothroides* Gray) growing on mine tailings in Arizona, USA. *Environ Pollut.* 2008 May;153(2):362-8.
2. Marchiol L, Fellet G, Perosa D, Zerbi G. Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: a field experience. *Plant Physiol Biochem.* 2007 May;45(5):379-87.

3. Armienta MA, Ongley LK, Rodríguez R, Cruz O, Mango H, Villaseñor G. Arsenic distribution in mesquite (*Prosopis leavigata*) and huizache (*Acacia farnesiana*) in the Zimapán mining area, México. *Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis*. 2008;8:191-7.
4. Almeida A-AF, Valle RR, Mielke MS, Gomes FP. Tolerance and prospection of phytoremediator wody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Braz J Plant Physiol*. [Review]. 2007;19(2):83-98.
5. Pauwels M, Willems G, Roosens N, Frerot H, Saumitou-Laprade P. Merging methods in molecular and ecological genetics to study the adaptation of plants to anthropogenic metal-polluted sites: implications for phytoremediation. *Mol Ecol*. 2008 Jan;17(1):108-19.
6. Meza-Figueroa D, Maier RM, de la OVM, Gomez-Alvarez A, Moreno-Zazueta A, Rivera J, et al. The impact of unconfined mine tailings in residential areas from a mining town in a semi-arid environment: Nacoziari, Sonora, Mexico. *Chemosphere*. 2009 Sep;77(1):140-7.
7. Black H. Absorbing possibilities: phytoremediation. *Environ Health Perspect*. [Innovation]. 1995 Dec;103(12):1106-8.
8. Memon AR, Schroder P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2009 Mar;16(2):162-75.
9. Mendez MO, Maier RM. Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2008;7:47-59.
10. Mendez MO, Glenn EP, Maier RM. Phytostabilization potential of quailbush for mine tailings: growth, metal accumulation, and microbial community changes. *J Environ Qual*. 2007 Jan-Feb;36(1):245-53.
11. Dobson AP, Bradshaw AD, Baker AJM. Hopes for the future: Restoration ecology and conservation biology. *Science*. 1997;277:515-22.
12. Burger J. The effect on ecological systems of remediation to protect human health. *Am J Public Health*. 2007 Sep;97(9):1572-8.
13. Milner MJ, Kochian LV. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. *Ann Bot*. 2008 Jul;102(1):3-13.
14. Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ, McGrath SP. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *J Environ Qual*. 2001 Nov-Dec;30(6):1919-26.
15. Mench M, Schwitzguébel J-P, Schroeder P, Bert V, Gawronski S, Gupta S. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environ Sci Pollut Res*. [Review]. 2009.
16. Lone MI, He ZL, Stoffella PJ, Yang XE. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: progresses and perspectives. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2008 Mar;9(3):210-20.
17. Peuke AD, Rennenberg H. Phytoremediation. *EMBO Rep*. [viewpoint]. 2005 Jun;6(6):497-501.
18. Mendez MO, Maier RM. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments --an emerging remediation technology. *Environ Health Perspect*. 2008 Mar;116(3):278-83.
19. Mench M, Vangronsveld J, Lepp N, Bleeker P, Ruttens A, Gebelen W. Phytostabilization of metal contaminated sites. In: Morel JL, Echevarria G, Goncharova N, editors. *Phytoremediation of metal contaminated soils*. Trest, Czech Republic: Springer; 2005. p. 345.
20. Marques AP, Rangel AO, Castro PM. Zinc accumulation in plant species indigenous to a Portuguese polluted site: relation with soil contamination. *J Environ Qual*. 2007 May-Jun;36(3):646-53.
21. Epelde L, Becerril JM, Mijangos I, Garbisu C. Evaluation of the efficiency of a phytostabilization process with biological indicators of soil health. *J Environ Qual*. 2009 Sep-Oct;38(5):2041-9.
22. Madejon P, Burgos P, Cabrera F, Madejon E. Phytostabilization of amended soils polluted with trace

- elements using the Mediterranean shrub: *Rosmarinus officinalis*. Int J Phytoremediation. 2009 Aug;11(6):542-57.
23. Instituto Nacional para el fideicomiso y el desarrollo municipal. Enciclopedia de los municipios de México. 2005; Available from: <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/durango/mpios/10015a.htm> . Recuperado 11 de agosto de 2011.
24. González AR. Ecología, Métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades: Pontificia Universidad Javeriana; 2006.
25. Mostacedo B, Frederickson T. Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en ecología vegetal. Santa Cruz, Bolivia: Proyecto de Manejo Forestal Sostenible (BOLFOS); 2000.
26. Malik RN, Husain Z, Nazir I. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. Pak J Bot. 2010;42(1):291-301.
27. Franco-Hernandez MO, Vasquez-Murrieta MS, Patino-Siciliano A, Dendooven L. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. Bioresour Technol. 2010 Jun;101(11):3864-9.
28. Epelde L, Becerril JM, Barrutia O, Gonzalez-Oreja JA, Garbisu C. Interactions between plant and rhizosphere microbial communities in a metalliferous soil. Environ Pollut. 2010 May;158(5):1576-83.
29. Shi YZ, Ruan JY, Ma LF, Han WY, Wang F. Accumulation and distribution of arsenic and cadmium by tea plants. J Zhejiang Univ Sci B. 2008 Mar;9(3):265-70.
30. Barrutia O, Artetxe U, Hernández A, Olano JM, García-Plazaola JI, Garbisu C, et al. Native Plant Communities in an Abandoned Pb-Zn Mining Area of Northern Spain: Implications for Phytoremediation and Germplasm Preservation. International Journal of Phytoremediation. 2011;13(3):256 - 70.