



Universidad Andina Simón Bolívar



Universidad Técnica de Oruro

Dirección de Postgrado e

Investigación Científica

**CURSO DE MAESTRIA EN:
INGENIERÍA AMBIENTAL MINERA**

**“IDENTIFICACIÓN DE PLANTAS
HIPERACUMULADORAS NATIVAS PARA SU USO EN
ACTIVIDADES DE FITORREMEDIACIÓN DE PASIVOS
AMBIENTALES COMUNIDAD DE PULACAYO”**

UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR
SEDE LA PAZ

Tesis presentada para obtener el Grado

Académico de Magister en

Ingeniería Ambiental Minera

ALUMNO: Alex Fernando Rojas Parrado

La Paz, Bolivia

Diciembre, 2013

DEDICATORIA

A mi hermosa familia..... No sería nada sin ellos!!!

Juanca....mil gracias por la ayuda

RESUMEN

El término “hiperacumuladora” fue acuñado por Brooks y Reeves para referirse a plantas desarrolladas en campo capaces de acumular más de 1.000 mg Ni/kg de materia seca en algún tejido de su biomasa aérea (Brooks *et al.*, 1977). De forma general, las hiperacumuladoras alcanzan concentraciones de metales en hojas entre 10 y 100 veces las concentraciones “normales” (Chaney *et al.*, 2000). Actualmente se utiliza el término hiperacumuladora de metales para designar plantas que acumulan más de 10.000 mg/kg de Mn y Zn, más de 1.000 mg/kg de Co, Cu, Pb, Ni, As y Se y más de 100 mg/kg de Cd. (Salt, 2009)

Los relaves del Río Negro se formaron por la acumulación de los restos de las operaciones mineras de Pulacayo y Huanchaca iniciadas en el siglo XIX y que continúa en la actualidad. Abarcan una extensión de aproximadamente 400 Has., con una potencia de hasta 1.5 metros.

Los metales pesados con mayor concentración en el sitio de acumulación de relaves son el plomo y el arsénico. Plantas de manera espontánea se han desarrollado sobre los relaves y fueron obtenidas muestras que fueron llevadas a laboratorio para análisis. De entre todas ellas destacó la especie *Festuca orthophylla* (Paja brava) con concentración dos veces por encima de lo que regularmente se encuentra en plantas comunes que crecen en sitios no contaminados, lo que la convierte en una especie denominada hiperacumuladora o metalófito.

Se ha sugerido el uso de esa especie vegetal para su uso en actividades de fitoremediación (fitoextracción y/o fitoestabilización).

La fitoextracción consiste en la absorción de sustancias contaminantes (inorgánicas o radionucléidos) por las plantas y su posterior traslocación / acumulación en raíz, tallo y/o hojas.

La Fitoestabilización, inmovilización “in situ”, se define como el uso de plantas para inmovilizar metales pesados a través de la absorción y acumulación en las raíces o precipitación dentro de la rizósfera con el objetivo de restaurar el suelo (Barceló y Poschenrieder, 2003; Wong, 2003; Alkorta *et al.*, 2004). Baker (1981) han denominado a este tipo de plantas, exclusoras.

ABSTRACT

The term "hyperaccumulator" was coined by Brooks and Reeves to refer to plants grown in field able to accumulate more than 1000 mg Ni / kg of dry matter in any tissue of the aboveground biomass (Brooks *et al.*, 1977). In general, the reach hyperaccumulator metal concentrations in leaves between 10 and 100 times the "normal" concentrations (Chaney *et al.*, 2000). Currently the hyperaccumulator term is used to designate metal-accumulating plants more than 10,000 mg / kg of Mn and Zn, more than 1,000 mg / kg of Co, Cu, Pb, Ni, As and Se and more than 100 mg / kg Cd (Salt, 2009)

The Río Negro Tailings were formed by the accumulation of the remains of Pulacayo and Huanchaca mining operations started in the XIX Century and that continues today. They cover an area of approximately 400 Has., with a capacity of up to 5 feet.

Heavy metals with the highest concentrations at the site of accumulation of tailings are lead and arsenic. Plants have developed spontaneously on tailings and samples were obtained and taken to the laboratory for analysis. Of all these species *Festuca orthophylla* (Paja brava) with concentration twice higher than regularly found in common plants growing in uncontaminated sites, which makes it a species called hyperaccumulator or metallophyte.

It has been suggested the use of that vegetal specie for use it in activities of phytoremediation (phytoextraction and / or phytoestabilization).

Phytoextraction involves the absorption of contaminants (inorganic or radionuclides) by plants and subsequent translocation / accumulation in roots, stems and / or leaves.

Phytostabilization, immobilization "in situ" is defined as the use of plants for immobilizing heavy metals through the uptake and accumulation in the roots or precipitation inside rhizosphere in order to restore the soil (Barcelo and Poschenrieder, 2003; Wong, 2003; Alkorta *et al.*, 2004).. Baker (1981) have called this type of plants excluders.

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS..... | 1 |
| 1.1 | Introducción | 1 |
| 1.2 | Historia de la minería en Pulacayo | 2 |
| 1.3 | La contaminación de suelos por metales..... | 3 |
| 1.4 | Historia de los relaves del Río Negro..... | 3 |
| 1.5 | Objetivos | 4 |
| 1.5.1 | Objetivo General..... | 4 |
| 1.5.2 | Objetivos Específicos..... | 4 |
| 2 | PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO Y ÁREA DE ESTUDIO | 5 |
| 2.1 | Alcance del Trabajo | 5 |
| 2.2 | Área de Estudio | 5 |
| 3 | MARCO TEÓRICO..... | 7 |
| 3.1 | Contaminación de Suelos | 9 |
| 3.2 | Efecto de los metales pesados en el Suelo | 10 |
| 3.3 | Características de los suelos alterados por actividad minera | 11 |
| 3.3.1 | Dinámica de los Metales Pesados en el Suelo..... | 12 |
| 3.3.2 | Biodisponibilidad de Metales Pesados | 14 |
| 3.4 | Relación Contaminante – Suelo – Planta | 14 |
| 3.4.1 | Movilización del metal en la matriz del suelo..... | 14 |
| 3.4.2 | Absorción radicular | 15 |
| 3.4.3 | Transporte en el xilema | 16 |
| 3.4.4 | Transporte a las hojas | 17 |
| 3.4.5 | Interacciones entre “metales pesados” y “Nutrientes” al interior de las plantas | 18 |
| 3.5 | Estrategias desarrolladas por las plantas en suelos contaminados con metales pesados..... | 19 |
| 3.5.1 | Plantas Tolerantes..... | 19 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.5.2 | Plantas indicadoras (acumuladoras)..... | 20 |
| 3.5.3 | Plantas hiperacumuladoras o metalófitas | 20 |
| 3.5.4 | Hipótesis sobre la ventaja adaptativa de la hiperacumulación para las plantas | 23 |
| 3.5.5 | Plantas Hiperacumuladoras y la Industria Minera | 24 |
| 3.5.6 | Hiperacumuladoras en América Latina..... | 26 |
| 3.5.7 | Hiperacumulación y descontaminación de suelos..... | 27 |
| 3.6 | Limitaciones de las plantas..... | 28 |
| 3.7 | Metales pesados y toxicidad en seres vivos | 29 |
| 3.8 | Fitotoxicidad | 29 |
| 3.9 | Plomo y Arsénico en las plantas..... | 30 |
| 3.9.1 | Plomo..... | 30 |
| 3.9.2 | Arsénico..... | 30 |
| 4 | FITORREMEDIACIÓN | 32 |
| 4.1 | Fitoextracción..... | 34 |
| 4.1.1 | Rol de los exudados de la raíz en la fitoextracción de metales pesados | 36 |
| 4.2 | Fitoestabilización..... | 38 |
| 4.3 | Ventajas y Limitaciones de la Fitorremediación..... | 39 |
| 4.4 | Mejoramiento de plantas para la Fitorremediación..... | 40 |
| 5 | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 42 |
| 5.1 | Materiales | 42 |
| 5.1.1 | Pulacayo | 42 |
| 5.1.2 | Marco Geográfico | 42 |
| 5.1.3 | Marco Climático | 44 |
| 5.1.4 | Vegetación | 44 |
| 5.1.5 | Suelos..... | 49 |
| 5.2 | Métodos | 50 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5.2.1 | Muestreo de Plantas | 50 |
| 5.2.2 | Muestreo de Suelo / Sedimentos..... | 52 |
| 5.3 | Análisis Químico de las Muestras | 53 |
| 5.3.1 | Plantas | 53 |
| 5.3.2 | Suelo..... | 53 |
| 6 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 54 |
| 6.1 | Metales pesados en los relaves del Río Negro..... | 54 |
| 6.2 | Evaluación e interpretación de resultados en Suelo..... | 54 |
| 6.3 | Análisis Comparativo con normas internacionales | 56 |
| 6.4 | Evaluación e Interpretación de resultados en plantas | 57 |
| 7 | CONCLUSIONES | 60 |
| 7.1 | <i>Festuca orthophylla</i> como una opción de Fitorremediación..... | 61 |
| 7.1.1 | Criterios de Riesgo | 62 |
| 7.2 | Aplicación de la metodología de Fitorremediación | 63 |
| 7.3 | Riesgos Generales de Bioacumulación | 64 |
| 7.4 | Perspectivas de Fitorremediación..... | 66 |
| 7.4.1 | Hiperacumuladoras en Latinoamérica | 66 |
| 7.4.2 | Vías de Investigación..... | 67 |
| 8 | ANEXOS | 72 |

INDICE DE TABLAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabla 1. | Límites del Área de Estudio (Relaves del Río Negro)..... | 5 |
| Tabla 2. | Criterios para determinar Plantas Hiperacumuladoras (Baker y Brooks, 1989 y Kabata – Pendias y Pendias, 2000)..... | 21 |
| Tabla 3. | Número de Taxas y Familias de Hiperacumuladoras en el mundo (Basada en los registros de Reeves & Baker 2000)..... | 22 |
| Tabla 4. | Ventajas y desventajas de la Fitorremediación | 39 |

| | |
|--|----|
| Tabla 5. Evaluación de la vegetación en el área de estudio – Cuadrante 1 | 45 |
| Tabla 6 Evaluación de la vegetación en el área de estudio – Cuadrante 2 | 46 |
| Tabla 7. Ubicación de las especies espontáneas recolectadas (WGS 84 – Zona 19). 52 | |
| Tabla 8. Ubicación de los puntos de toma de muestra de suelos..... | 52 |
| Tabla 9. Resultados de Laboratorio – Presencia de Pb y As en sedimentos..... | 55 |
| Tabla 10. Tabla Comparativa de concentración de As y Pb – Suelos (mg/Kg)..... | 56 |
| Tabla 11. Resultados de Laboratorio – Presencia de Pb y As en plantas | 57 |
| Tabla 12 Características clave en plantas aptas para fitoextracción y fitoestabilización (Mendez y Maier, 2008) | 60 |
| Tabla 13. Grupos de metales y metaloides según biodisponibilidad y riesgo para la cadena alimentaria (Chaney 1980) | 65 |

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

| | |
|---|----|
| Fotografía 1. <i>Parastrephia quadrangularis</i> - Phulica | 47 |
| Fotografía 2. <i>Lampaya medicinalis</i> – Lampaya..... | 48 |
| Fotografía 3. <i>Festuca orthophylla</i> – Paja brava, Iru Ichu..... | 49 |
| Fotografía 4. <i>Festuca orthophylla</i> utilizada para remediar un antiguo depósito de desmontes Tablachaca, Activos Mineros (Perú, 2013)..... | 62 |

INDICE DE ILUSTRACIONES

| | |
|---|----|
| Ilustración 1. Movilización de metales pesados en el Suelo (Hernández, 2009) | 13 |
| Ilustración 2. Influencia del pH sobre la adsorción de algunos metales, a diferentes pH (Kabata-Pendias, 2000). | 15 |
| Ilustración 3. Mecanismos involucrados en la acumulación de metales en plantas. (Clemens <i>et al.</i> , 2002) | 16 |
| Ilustración 4. Componentes típicos de una célula vegetal. Adaptada de: www.kenbiorefs.com/cellstructure.html | 17 |
| Ilustración 5. Respuestas típicas de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo (Adriano, 2001)..... | 19 |

| | |
|--|----|
| Ilustración 6. Número de especies encontradas por tipo de elemento (Elaboración propia) | 23 |
| Ilustración 7. Esquema general de la descontaminación de iones metálicos en un proceso natural de fitorremediación (Singh <i>et al.</i> , 2003)..... | 33 |
| Ilustración 8 Ubicación del Área de Estudio en el Departamento de Potosí | 43 |
| Ilustración 9. Plomo en sedimentos..... | 56 |
| Ilustración 10. Arsénico en plantas..... | 58 |
| Ilustración 11. Plomo en plantas | 59 |

INDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. Plantas indicadoras de metales en Latinoamérica descubiertas por prospecciones geobotánicas | 72 |
| Anexo 2. Hiperacumuladoras descritas en América Latina por la literatura (MT) Tolerante a los metales (H) Hiperacumuladora..... | 73 |
| Anexo 3. Análisis Químico de Laboratorio Spectrolab – Universidad Técnica de Oruro | 75 |
| Anexo 4. Clasificación de las Especies – Herbario Nacional de Bolivia..... | 77 |

IDENTIFICACIÓN DE PLANTAS HIPERACUMULADORAS NATIVAS PARA SU USO EN ACTIVIDADES DE FITORREMEDIACIÓN DE PASIVOS AMBIENTALES COMUNIDAD DE PULACAYO

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 Introducción

Sudamérica posee una gran abundancia y diversidad de yacimientos minerales metálicos. Sin embargo, se han descrito pocas especies tolerantes e hiperacumuladoras de metales en comparación con otras regiones del mundo. Esto podría deberse tanto a la escasez de estudios científicos sobre la vegetación nativa que se han desarrollado sobre mineralizaciones superficiales o en suelos enriquecidos antrópicamente con metales como a la falta de métodos biogeoquímicos para la prospección de minerales, más bien que a la ausencia real de este tipo de especies vegetales en la región. Latinoamérica es, sin embargo, un área con gran potencial para la presencia de este tipo de especies vegetales, no solo por el gran número de mineralizaciones y áreas contaminadas con metales presentes, sino que por su variada y única diversidad vegetal. Si las comunidades vegetales presentes sobre mineralizaciones naturales no se estudian antes de que se lleven a cabo procesos de extracción de minerales, podrían perderse para siempre especies y/o genotipos (ecotipos) claves para ser usados, en la mitigación de problemas ambientales relacionados con el propio sector minero. (Ginocchio y Baker, 2004).

La pequeña y mediana minería ha sido una actividad históricamente importante para Bolivia, y en especial para las comunidades cercanas a las minas y a las plantas de procesamiento de minerales. Sin embargo, la explotación más intensiva de minerales en los últimos 150 años, también ha generado grandes cantidades de pasivos ambientales entre los que se destacan los depósitos de relaves.

En el área de influencia de la comunidad de Pulacayo existen aproximadamente 400 Has de suelos contaminados con relaves en las playas del Rio Negro. Estos depósitos de diferentes volúmenes y potencias causan daños irreparables por su drenaje ácido al suelo y a las aguas, lo que conlleva a ampliar la contaminación hacia plantas y animales (MINCO, 2007 – Proyecto Pulacayo – Apogee Minerals)

La remediación de estos pasivos ambientales, no está contemplada por ninguna institución estatal y considerando la magnitud del impacto los costos de hallar una solución por métodos convencionales se hacen casi prohibitivos.

Sin embargo, existen alternativas de remediación que han estado siendo utilizadas de manera frecuente en Estados Unidos y Europa, estas alternativas incluyen métodos biológicos con diferentes resultados. Entre estos se destaca la fitorremediación que hace uso de vegetación para recuperar las condiciones del suelo.

Similar procedimiento puede ser desarrollado en el caso de los depósitos de relaves del Río Negro, donde se ha podido detectar algunas especies de plantas que se han desarrollado a pesar de las condiciones tan desventajosas.

Estas plantas son conocidas como *hiperacumuladoras* por la alta tolerancia y asimilación de algunos metales. Esta capacidad las convierte en excelentes candidatas para su uso en programas de fitorremediación, lo que permitiría reducir de manera significativa los costos en programas de revegetación y beneficiaría de manera importante a la región recuperando la capacidad productiva del suelo.

1.2 Historia de la minería en Pulacayo

El antiguo y famoso yacimiento de Plata, Plomo y Zinc de Pulacayo, se encuentra ubicado a 18 kilómetros al Nor Este de Uyuni y ha sido uno de los productores más importantes de plata de Sudamérica.

Después de su descubrimiento en el año 1833 por el minero Mariano Ramírez, durante el año 1856 se formó la Compañía Huanchaca que inició los trabajos mineros. Sin embargo, la explotación intensiva de la mina, recién tuvo lugar a partir del año 1873, a través de una compañía boliviana-francesa, la misma que continuó esta explotación hasta 1913, año en que los trabajos, por razones de orden técnico, confrontaron serios problemas que no permitieron proseguir con una operación rentable. En 1927, la mina fue tomada en alquiler por la Empresa Minera Hochschild, que logró desaguarla; de este modo y con el aprovechamiento de los antiguos desmontes y rellenos, la mina alcanzó nuevamente una producción importante. En 1951 se exportaron concentrados con un contenido de 68,843 kg., de plata, 18,652 Ton de zinc, 3,191 Ton de plomo, 1,120 Ton de cobre y 15 kg de oro (Fuente: Ahlfeld y Schneider – Scherbina, 1964).

En 1952, la mina fue nacionalizada y pasó a formar parte de la Corporación Minera de Bolivia (COMIBOL). En 1959, los trabajos se paralizaron en razón del empobrecimiento del depósito y más que todo, por las serias dificultades de orden técnico que se presentaron en la mina.

El cierre de operaciones determinó por tanto que los trabajadores fueran “relocalizados” a otras operaciones de la COMIBOL y en la mayoría de los casos,

regresaron a sus lugares de origen juntamente con sus familias y los menos continúan trabajando en la comunidad de Pulacayo como cooperativistas, siendo los mismos socios de la Cooperativa Minera Pulacayo Ltda., que fue fundada en 1962.

1.3 La contaminación de suelos por metales

La actividad minera puede causar daños severos en el ambiente, dañar tierras de cultivo, favorecer la erosión y contaminar cuerpos de agua con sales solubles de elementos potencialmente tóxicos como el As, Se, Pb, Cd y óxidos de S, entre otros (Tania Volke *et al.*, 2005). Por otro lado, las industrias de tipo siderúrgico y metalúrgico pueden emitir partículas de distintas dimensiones que debido al viento pueden ser transportadas a considerables distancias (Csuros y Csuros 2002).

La flotación, proceso hidrometalúrgico para concentrar y enriquecer las especies minerales es una de las técnicas más antiguas existentes para la recuperación de metales (Salager, 1992). Durante este proceso, diversos reactivos químicos son utilizados para producir espumas, reducir la tensión superficial y hacer flotar algunos minerales, cuyas superficies son acondicionadas a formas hidrofóbicas.

Los remanentes del proceso de concentración se constituyen en un desecho minero, denominados relaves, jales o colas, que siempre tienen residuos minerales que eventualmente podrían ser recuperados. Sin embargo, lo más común, es el caso de los relaves que fueron generados en Pulacayo, es que tales desechos fueran descartados en ríos o en pilas. Su composición en general es ampliamente diversa y tendrá estrecha relación con los minerales que fueron explotados.

1.4 Historia de los relaves del Río Negro

Las labores de tratamiento de minerales efectuadas en la planta de concentración o ingenio Pulacayo hasta el año 1959, generaron residuos sólidos como desmontes, y principalmente relaves de ingenio, las mismas que debido a la carencia de un dique, fueron echadas directamente al cauce de los ríos Negro e Irpa Mayu, quedando en la actualidad remanentes de dichos relaves a lo largo del curso del río, aguas abajo de la población de Pulacayo hasta una distancia aproximada de 33.0 km, conformando pequeños depósitos de relaves, que fueron evaluados por la empresa ANDEAN SILVER CORPORACIÓN – ASC BOLIVIA LDC, determinando en general un volumen de relaves de 20547.50 m³ que con un peso específico de 3 indica 61642.50 Ton con leyes promedio de 1.92 ppm de oro 260.19 ppm de plata, 0.65 % de plomo y 1.10 % de zinc. (ASC BOLIVIA LDC – Febrero 2003).

Zona de descargas de relaves en Planicie del Río Negro

Aproximadamente a 33 km aguas abajo de la población de Pulacayo, luego de la confluencia de los ríos Río Negro e Irpa Mayu, en una llanura lacustre denominada Khasa Pampa se ha depositado un volumen considerable de una mezcla de sedimentos aluviales con material de relave contaminando una extensión de aproximadamente 400 Has., conformando una capa mineralizada que varía en espesor desde pocos centímetros a 1.50 m de potencia, considerado como un gran pasivo ambiental (Minco, 2007).

Estos pasivos, de acuerdo al análisis de Potencial de Neutralización y Potencial Ácido realizado para la Auditoría de Línea Base Ambiental (ALBA) del Proyecto Pulacayo – Paca de la empresa Apogee Minerals Bolivia, son generadores de drenaje ácido de roca.(Minco, 2007)

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo General

El Objetivo General de la investigación es “Identificar especies de plantas hiperacumuladoras nativas para su uso en actividades de fitorremediación, que permitan disminuir el impacto ambiental de los relaves mineros en el Río Negro en la población de Pulacayo”.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Identificar y listar todas aquellas plantas hiperacumuladoras y/o tolerantes a metales pesados desarrollándose en el sitio, para su uso aprovechamiento en actividades de fitorremediación.
- Determinar las concentraciones de los metales pesados Plomo (Pb) y Arsénico (As) en las plantas hiperacumuladoras y/o tolerantes a estas condiciones edáficas.

2 PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO Y ÁREA DE ESTUDIO

2.1 Alcance del Trabajo

La presente Tesis de Grado tiene como alcance la determinación de la existencia o no de especies de plantas hiperacumuladoras o metalófitas con potencial de ser utilizadas en labores de fitorremediación.

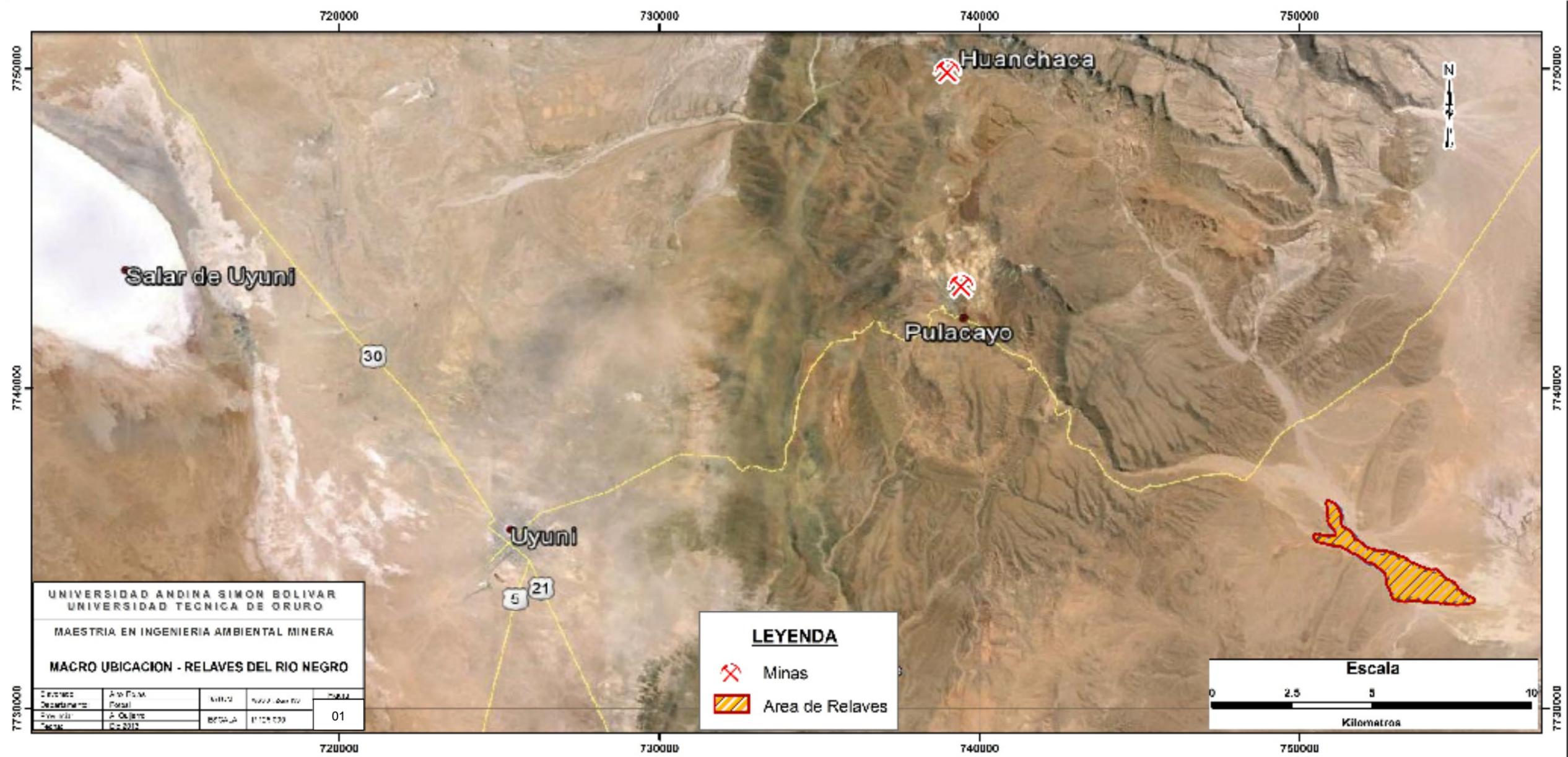
Para llevar adelante este trabajo de investigación se ha evaluado la zona impactada por los relaves en las riberas del Río Negro y áreas circundantes a la misma.

2.2 Área de Estudio

El área de estudio está delimitada por las siguientes coordenadas geográficas:

Tabla 1. Límites del Área de Estudio (Relaves del Río Negro)

| Límite | Coordenadas | |
|-----------|-------------|------------|
| | Este | Norte |
| Límite 1 | 751255.23 | 7736770.21 |
| Límite 2 | 751512.00 | 7735527.06 |
| Límite 3 | 750840.44 | 7735558.20 |
| Límite 4 | 751888.12 | 7735028.23 |
| Límite 5 | 752765.84 | 7734434.97 |
| Límite 6 | 753208.08 | 7733451.10 |
| Límite 7 | 755485.94 | 7733286.32 |
| Límite 8 | 754540.30 | 7734296.79 |
| Límite 9 | 753308.39 | 7734858.65 |
| Límite 10 | 752446.52 | 7735112.67 |
| Límite 11 | 752003.10 | 7735659.10 |
| Límite 12 | 751689.89 | 7735861.66 |



3 MARCO TEÓRICO

El objetivo original de investigar sobre plantas hiperacumuladoras ha sido identificar nuevos yacimientos minerales y aportar nuevas características fenotípicas para la identificación de especies. La primera cita de una hiperacumuladora de Ni apareció en el trabajo de Minguzzi y Vergnano (1948), con una concentración de hasta 1,2% Ni en hojas de *Alyssum bertolonii*. En 1969 Menezes Sequeira identificaba a *Alyssum serpyllifolium* subsp. *lusitanicum* (Menezes Sequeira, 1969). Mucho más tarde, Chaney y colaboradores introducían la idea de utilizar estas especies para la limpieza de suelos contaminados con metales (Chaney *et al.*, 1981a,b; Chaney, 1983).

Muchas especies toleran las elevadas concentraciones de metales en el suelo porque restringen su absorción y/o translocación hacia las hojas, lo que les permite mantener concentraciones constantes y relativamente bajas en la biomasa aérea independientemente de la concentración metálica del suelo en un intervalo amplio (estrategia de exclusión según Baker, 1981). Sin embargo, otras absorben los metales activamente a partir del suelo y los acumulan en formas no tóxicas en su biomasa aérea (estrategia acumuladora). Una respuesta intermedia es la que presentan las plantas indicadoras, cuya concentración metálica refleja la del suelo (Baker, 1981). Entre las acumuladoras se han reconocido diferentes grados de acumulación metálica, desde pequeñas elevaciones sobre el nivel de fondo hasta concentraciones excepcionalmente elevadas de metales pesados como el Ni, Zn y Co en su biomasa aérea sin mostrar ningún síntoma visible de toxicidad (Brooks *et al.*, 1977). Es más, algunas de estas plantas, no pueden completar sus ciclos vitales cuando crecen en suelos “normales” y se denominan plantas hiperacumuladoras.

El término “hiperacumuladora” fue acuñado por Brooks y Reeves para referirse a plantas desarrolladas en campo capaces de acumular >1.000 mg Ni/kg de materia seca en algún tejido de su biomasa aérea (Brooks *et al.*, 1977). De forma general, las hiperacumuladoras alcanzan concentraciones de metales en hojas entre 10 y 100 veces las concentraciones “normales” (Chaney *et al.*, 2000). Actualmente se utiliza el término hiperacumuladora de metales para designar plantas que acumulan >10.000 mg/kg de Mn y Zn, >1.000 mg/kg de Co, Cu, Pb, Ni, As y Se y >100 mg/kg de Cd. (Salt, 2009)

El por qué estas plantas absorben los metales es debido a que precisan de estos elementos para crecer y completar su ciclo vital, las plantas no sólo adquieren macronutrientes (N, P, K, S, Ca y Mg), sino también micronutrientes esenciales como

el Fe, Zn, Mn, Ni, Cu y Mo. Las plantas han evolucionado mecanismos altamente específicos para absorber, traslocar y almacenar estos nutrientes.

Muchos metales como el Zn, Mn, Ni y Cu son micronutrientes esenciales. En general, las plantas no acumuladoras, estos micronutrientes no son absorbidos más allá de su necesidad metabólica (<10 ppm). En contraste, las plantas hiperacumuladoras pueden acumular de manera excepcional altas concentraciones de metales (hasta miles de ppm).

Davis Salt, 2009 afirma que se conocen especies de plantas acumuladoras de metales (níquel, zinc, cobre, cadmio, selenio o manganeso) en altos niveles, y que este tipo de proceso ocurre en la vida silvestre sin ninguna intervención del hombre.

Según Salt, las plantas hiperacumuladoras o metalófitas almacenan metales en estructuras microscópicas celulares llamadas vacuolas. Las vacuolas son estructuras compuestas por membranas que protegen el resto de la célula de los efectos tóxicos de los metales. Las membranas protectoras de las vacuolas han sido relacionadas debido a su semejanza, con las células de membrana del hígado humano que presentan funciones similares.

La hiperacumulación es un fenómeno raro, y la base evolutiva de su selección ha sido una incertidumbre desde su descubrimiento. Algunos estudios recientes sugieren que la acumulación inusual de metales confiere a estas plantas la capacidad de limitar su depredación y las infecciones microbianas causantes de enfermedades vegetales (Boyd y Martens, 1994; Boyd *et al.*, 1994; Pollard y Baker, 1997; Poschenrieder *et al.*, 2006). Hasta la actualidad, se han identificado aproximadamente 500 especies hiperacumuladoras, distribuidas entre 45 familias, lo que representa sólo un 0,2% de las angiospermas (Baker *et al.*, 2000; McGrath y Zhao, 2003. No obstante, la lista sigue creciendo con citas recientes, como la del helecho *Pteris vittata*, que hiperacumula arsénico (Ma *et al.*, 2001), o la de *Alyssum bracteatum* hiperacumuladora del níquel (Ghaderian *et al.*, 2007).

Diversos estudios se han realizado en varios países y tal vez uno de los más conocidos en nuestra región son los llevados a cabo por el proyecto Innova Chile: "Uso de recursos fitogenéticos nativos para la fito-estabilización de relaves mineros en la región de Coquimbo", a cargo de la Dra. Rosanna Ginocchio, del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM) y del Dr. Pedro León del INIA Intihuasi, quienes indican que han logrado identificar alrededor de 125 especies nativas y endémicas que ha colonizado espontáneamente zonas de relaves abandonados y que

su investigación ahora está dedicada a conocer su método de propagación e identificar qué tipo de minerales puede absorber cada una de ellas.

La intención de identificar especies nativas endémicas sobre las exóticas o introducidas tiene su justificativo debido a que las mismas ya están adaptadas al clima y las condiciones edáficas del lugar con un mejor costo – beneficio y sin causar problemas posteriores en el medio ambiente, como la alteración de la dinámica de las comunidades biológicas silvestres del lugar.

Adicionalmente se debe de analizar que en la medida de lo posible, estas especies puedan tener una aceptable tasa de crecimiento, elevada biomasa y que la absorción o almacenamiento de los metales pesados se la haga a nivel de raíces y no en tallos u hojas, para evitar su bioacumulación y transferencia a especies animales que podrían alimentarse de las mismas.

3.1 Contaminación de Suelos

En general se considera que la movilidad de los metales pesados es muy baja, quedando acumulados en los primeros centímetros del suelo. La lixiviación a los horizontes subsuperficiales es, por tanto, en muy bajas cantidades. Es por ello que la presencia de altas concentraciones en el horizonte superficial seguida de un drástico descenso a los pocos centímetros de profundidad es un buen criterio de diagnóstico de contaminación antrópica (Bech *et al.*, 2001).

Para poder hablar de suelos contaminados es necesario tener una referencia de cuando están libres de contaminantes. El nivel basal o background se define como la concentración natural de un elemento en un suelo que no ha sido alterado por la actividad humana (Gil *et al.*, 2002). Por tanto, un suelo está libre de contaminantes cuando está dentro de estos niveles basales. Es importante también conocer estos valores en el momento de descontaminar suelos y así saber hasta qué punto se debe limpiar y cuáles son los niveles aceptables (Bech *et al.*, 2001).

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 contaminación (Sauve *et al.*, 2000). 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 (Spain *et al.*, 2003).

Estos contaminantes pueden alcanzar niveles de concentración que provocan efectos negativos 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 desarrollo (Zhang *et al.*, 2000).

Las principales fuentes de metales pesados son actividades naturales, como erosión, 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. (Pineda, 2004).

Dentro de los metales pesados hay dos grupos; macronutrientes y oligoelementos o micronutrientes: los segundos son los requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza por plantas y animales y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasado cierto umbral se vuelven tóxicos, como el As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Fe, Se y Zn y metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva aparejada disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, Tl (García y Dorronsoro, 2005).

3.2 Efecto de los metales pesados en el Suelo

Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanzan niveles que rebasan los límites máximos permitidos causan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal y el desarrollo de las plantas, y un disturbio funcional en otros componentes del ambiente así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo, el término que se usa o se emplea es “polución de suelos” (Martín, 2000).

En el suelo, los metales pesados están presentes como iones libres, compuestos metálicos solubles, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos. Su acción directa sobre los seres vivos ocurre a través del bloqueo de las actividades biológicas, es decir, la inactivación enzimática por la formación de enlaces entre el metal y los grupos – SH (sulfhidrilos) de las proteínas, causando daños irreversibles en

los diferentes organismos. La contaminación en suelos por metales pesados ocurre cuando estos son irrigados con aguas procedentes de desechos de minas, aguas residuales contaminadas de parques industriales y municipales y filtraciones de presas de relaves (Wang *et al.*, 1992).

El pH es un factor esencial, para que la mayoría de los metales tiendan a estar más disponibles en un pH ácido, excepto As, Mo, Se y Cr, los cuales tienden a estar más disponibles a pH alcalino es una variable importante para definir la movilidad del catión, debido a que en medios con pH moderadamente alto se produce la precipitación como hidróxidos. En medios muy alcalinos, pueden nuevamente pasar a la solución como hidroxicomplejos. La adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo y por tanto, también la biodisponibilidad de sus compuestos (Alloway, 1995).

La materia orgánica puede adsorber tan fuertemente a algunos metales, como es Cu, que pueden quedar en forma no disponible por las plantas, motivo por el cual, algunas plantas crecidas en suelos ricos en materia orgánica, presentan carencia de elementos como el Cu, Pb y Zn, eso no significa que los suelos no estén contaminados ya que las poblaciones microbianas se reducen notablemente. La textura favorece la entrada e infiltración de la contaminación de metales pesados en el suelo, por ejemplo la arcilla tiende a adsorber a los metales pesados, que quedan retenidos en sus posiciones de cambio, por el contrario los suelos arenosos carecen de capacidad de fijación de los metales pesados, los cuales pasan rápidamente al subsuelo y pueden contaminar los niveles freáticos (Pineda, 2004).

3.3 Características de los suelos alterados por actividad minera

Los suelos que quedan tras una explotación minera contienen todo tipo de materiales residuales, escombros estériles, entre otros, lo que representa graves problemas para el desarrollo de la cubierta vegetal, siendo sus características más notables las siguientes: clase textural desequilibrada, ausencia o baja presencia de la estructura edáfica, propiedades químicas anómalas, disminución o desequilibrio en el contenido de nutrientes fundamentales, ruptura de los ciclos biogeoquímicos, baja profundidad efectiva, dificultad de enraizamiento, baja capacidad de cambio, baja retención de agua y presencia de compuestos tóxicos (García & Dorronsoro, 2002).

Las características del suelo juegan un papel importante en reducir o aumentar la toxicidad de los metales en el suelo; Colombo *et al.* (1998) comentan que la distribución de los metales pesados en los perfiles del suelo, así como su

disponibilidad está controlada por parámetros como propiedades intrínsecas del metal y características de los suelos.

Los metales tienden a acumularse en la superficie del suelo quedando accesibles al consumo de las raíces de los cultivos (Baird, 1999). Las plantas cultivadas en suelos contaminados absorben en general más oligoelementos y la concentración de éstos en los tejidos vegetales está a menudo directamente relacionada con su abundancia en los suelos, y especialmente en la solución húmeda (Kabata-Pendias & Pendias, 2001) Gulson *et al.* (1996) mencionan que excesivas concentraciones de metales en el suelo podrían impactar la calidad de los alimentos, la seguridad de la producción de cultivos y la salud del medio ambiente, ya que estos se mueven a través de la cadena alimenticia vía consumo de plantas por animales y estos a su vez por humanos.

3.3.1 Dinámica de los Metales Pesados en el Suelo

La contaminación del suelo por metales pesados está fundamentalmente relacionada con diferentes tipos de actividades humanas. Una vez en el suelo, éstos pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos (Pagnanelli *et al.*, 2004). Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelo, nivel de introducción y tiempo (Han *et al.*, 2003).

La movilidad relativa de los elementos traza en suelos es de suma importancia en cuanto a su disponibilidad y su potencial para lixiviarse de los perfiles del suelo al agua subterránea y difiere de si su origen es natural o antrópico y, dentro de este último, al tipo de fuente antrópica (Burt *et al.*, 2003).

Los factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo son:

Características del suelo: pH, potencial redox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de cambio, presencia de carbonatos, materia orgánica, textura; naturaleza de la contaminación: origen de los metales y forma de deposición y condiciones medioambientales: acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de temperatura y humedad (Sauquillo *et al.*, 2003).

Según Garcia y Dorronsoro (2005), los metales incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías:

- Quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación.
- Pueden ser absorbidos por las plantas y así, incorporarse en las cadenas tróficas.
- Pasar a la atmósfera por volatilización.
- Movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas

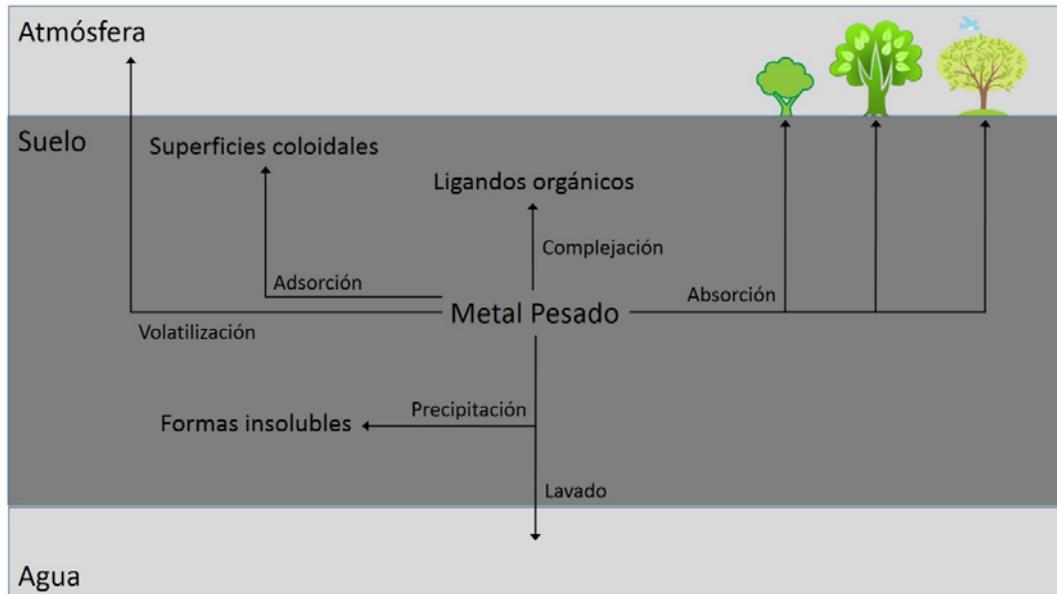


Ilustración 1. Movilización de metales pesados en el Suelo (Hernández, 2009)

Lopez y Grau (2005), señalan que en el suelo los metales pesados pueden estar en seis compartimentos principales, asociados de formas diversas a los contribuyentes del suelo.

- Dentro de las redes cristalinas de los minerales primarios (no alterados, heredados de la roca madre) y de constituyentes secundarios (minerales procedentes de la alteración edafogenética).
- Adsorbidos en las fases de hidróxido de hierro, aluminio y manganeso.
- Secuestrados o ligados a los restos vegetales y animales (que son liberados a medida que se van mineralizando estos residuos).
- Incluidos en las macromoléculas orgánicas
- En forma intercambiable (ión) asociados a la superficie de las arcillas minerales y a la materia orgánica.
- En forma soluble, coloide o particulada, en la solución del suelo.

3.3.2 Biodisponibilidad de Metales Pesados

Lopez y Grau (2005), definieron el término biodisponibilidad como la capacidad de un elemento para pasar de un comportamiento cualquiera del suelo a un ser vivo. Esta movilidad, que se define como la aptitud de transferencia de metales pesados entre compartimentos, está determinada por la forma, el número de cargas y la energía de retención de los metales pesados (Reid, 2001) y se ve influenciada por factores externos (pH, temperatura, humedad, ambiente químico, etc.) aunque también se puede asociar con el uso del suelo, por ejemplo, los metales en suelos forestales son más fácilmente movilizados que en suelos agrícolas, lo que está directamente relacionado con mayor acidez del suelo y a la mayor presencia de sustancias orgánicas de bajo peso molecular (Kabata – Pendias y Pendias, 2000).

La especiación y la localización de contaminantes en el suelo están relacionados con su forma química en el momento de la importación, debido a que va a regular no sólo su disponibilidad (según se encuentre disuelto, adsorbido, ligado o precipitado) sino también el grado de toxicidad (Kabata – Pendias y Pendias, 2000) e influirá decisivamente en el efecto contaminante producido. Por tanto, la biodisponibilidad de contaminantes depende de sus propiedades químicas, las propiedades del suelo, las condiciones ambientales y la actividad biológica (Pilon – Smits, 2005).

3.4 Relación Contaminante – Suelo – Planta

En la planta, la acumulación de un metal está en función de su capacidad de absorción y de los sitios de unión al metal. Los mecanismos involucrados en la acumulación vegetal de metales son: movilización o solubilización, absorción, transporte en el xilema, transporte a las hojas, retención y almacenamiento en tejidos aéreos y raíces. En cada etapa la concentración y afinidad de los compuestos quelantes, así como la presencia y selectividad de los mecanismos de transporte, afectan el índice de acumulación del metal (Clemens 2002).

3.4.1 Movilización del metal en la matriz del suelo

En el suelo, la mayoría de los metales existen de manera insoluble y tienden a estar disponibles a pH ácido, excepto As, Mo, Se y Cr que son solubles a pH alcalino (Kabata-Pendias 2000). En suelos donde el pH es moderadamente alcalino, la precipitación de los metales es en forma de hidróxidos. Debido a esto las plantas usan dos métodos para liberar metales de la matriz del suelo: la acidificación de la rizósfera

mediante la acción de bombas de protones en la membrana plasmática y la secreción de ligandos que quelan el metal.

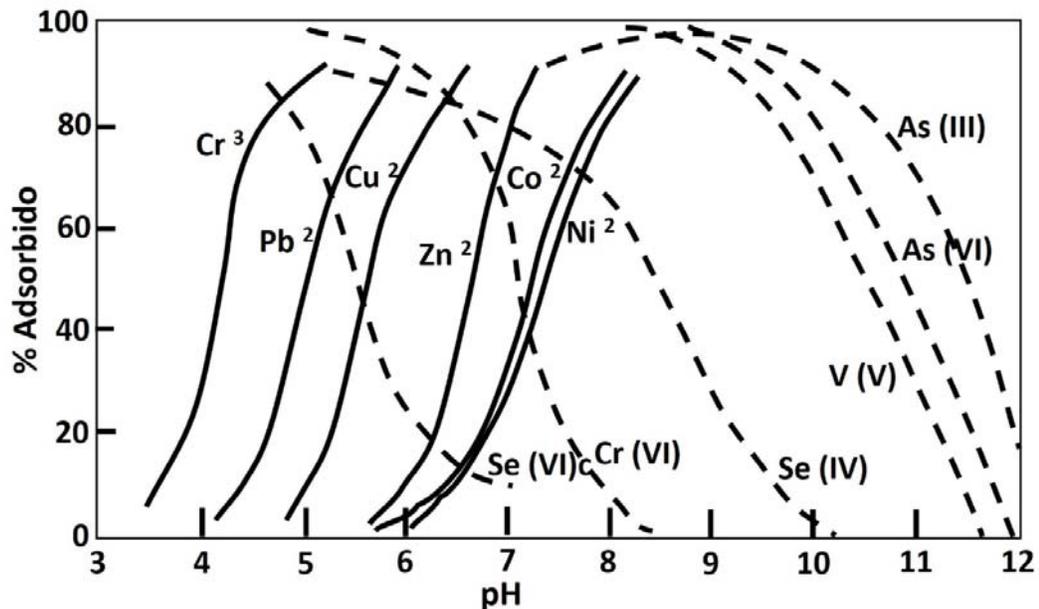


Ilustración 2. Influencia del pH sobre la adsorción de algunos metales, a diferentes pH (Kabata-Pendias, 2000).

Las plantas han perfeccionado estos procesos para liberar metales esenciales del suelo. Sin embargo, en aquellos con elevada concentración de metales tóxicos se solubilizan también los metales esenciales para la vida.

En la actualidad se han identificado y clonado diferentes genes responsables del transporte de metales. Se propone que muchos de ellos se localizan en la membrana plasmática y están involucrados en la toma de metales hacia dentro de la célula (Clemens *et al.*, 2001). Sin embargo, una detoxificación eficiente por parte de la planta requiere de mecanismos de transporte que acumulen al compuesto tóxico o metal pesado, lejos de los procesos metabólicos en un compartimento definido dentro de la célula, por ejemplo, dentro de la vacuola para prevenir posibles efectos nocivos.

3.4.2 Absorción radicular

Este es un mecanismo de captura de metales. Primero los metales se unen a la pared celular, la cual es un intercambiador de iones de baja afinidad y baja selectividad. Los sistemas de transporte y los sitios de unión intracelular de gran afinidad impulsan la absorción a través de la membrana plasmática. La absorción de los iones metálicos es probable que se realice a través de transportadores secundarios como canales y/o

proteínas transportadoras. El potencial negativo de la membrana plasmática en la parte interna proporciona la fuerza motriz para la absorción de cationes a través de los transportadores secundarios (Clemens et al. 2002).

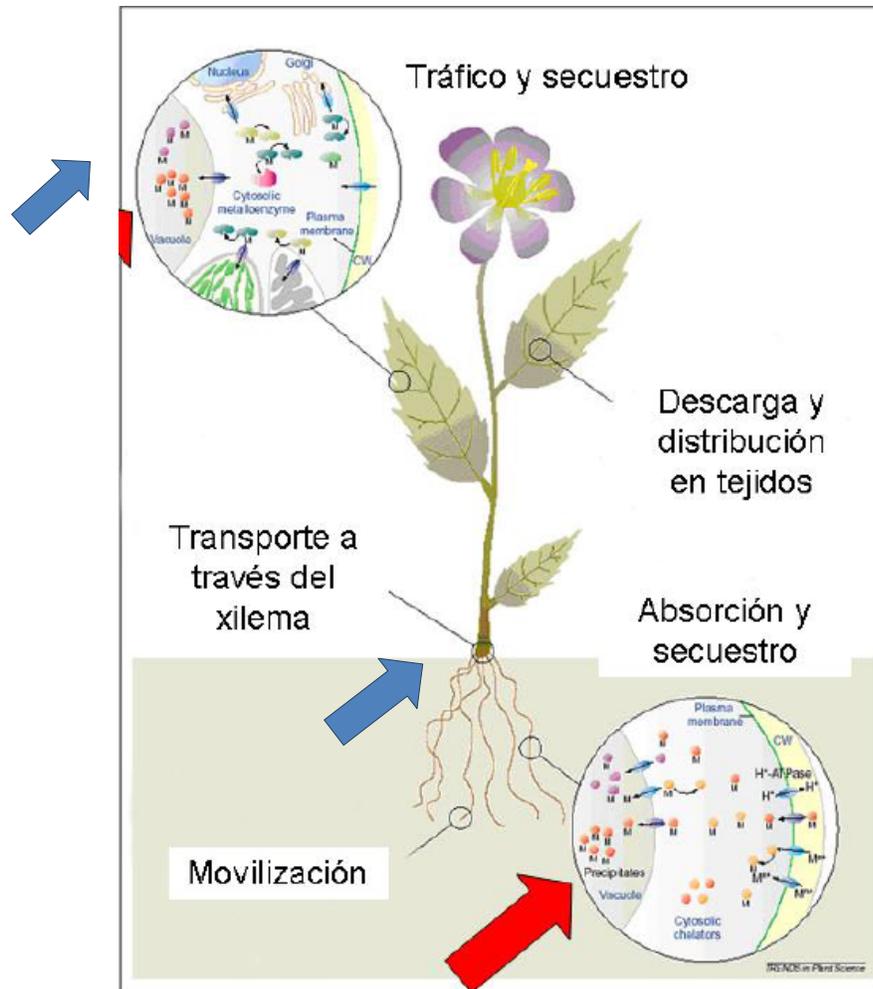


Ilustración 3. Mecanismos involucrados en la acumulación de metales en plantas. (Clemens *et al.*, 2002)

3.4.3 Transporte en el xilema

En este mecanismo de transporte los metales solubles ingresan dentro del simplasto de la raíz una vez que han atravesado la membrana plasmática de las células epidérmicas (Tester y Leigh 2001). Una vez los metales ingresaron a la raíz se presentan tres diferentes procesos que generan su movimiento hasta el xilema; el secuestro de metales por las células de la raíz, el transporte al conducto central y su liberación dentro del xilema. Se cree que los metales utilizan los mismos canales o

transportadores que usan los nutrientes esenciales (Hall 2002, Meharg y Macnair 1992).

3.4.4 Transporte a las hojas

Durante esta operación, los metales alcanzan el apoplasto de las hojas en la sabia del xilema de donde son tomados por las células de las hojas. El tránsito de metales que se produce dentro de cada célula de la planta, mantiene la concentración dentro de los intervalos fisiológicos específicos en cada órgano y asegura la entrega de metales a las proteínas que requieran de estos metales. En condiciones de exceso, el metal se acumula en los tricomas y vacuolas de células de la epidermis de la hoja unido a agentes quelantes como los ácidos orgánicos y proteínas. Esta localización minimiza el efecto tóxico del metal manteniéndolo lo más lejos posible de las células mesófilas que son las que realizan la fotosíntesis (Peer *et.al.*, 2005).

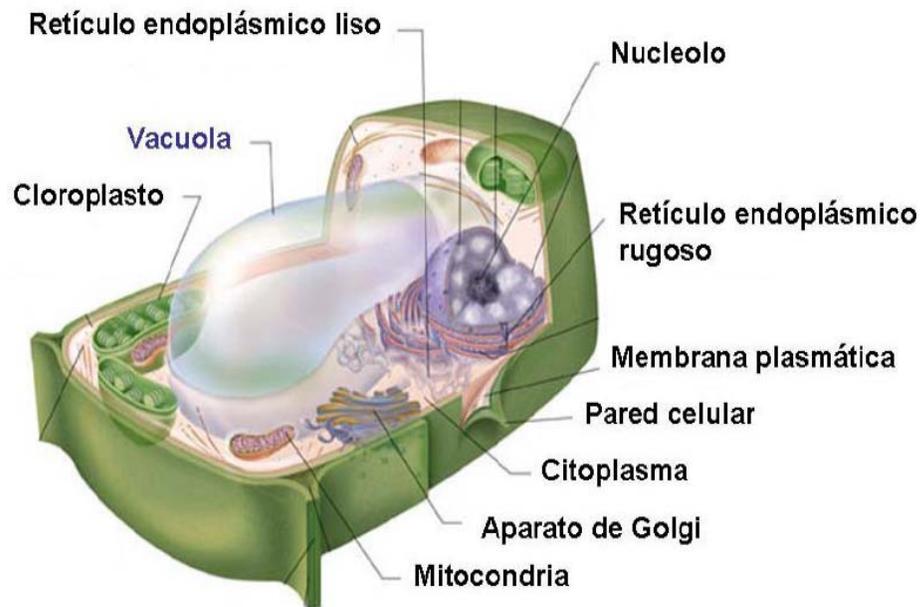


Ilustración 4. Componentes típicos de una célula vegetal. Adaptada de: www.kenbiorefs.com/cellstructure.html

Existe evidencia de que los metales y metaloides son secuestrados en las vacuolas de las hojas en plantas hiperacumuladoras de zinc, cadmio, níquel y arsénico (McGrath & Zhao, 2003). La vacuola es el compartimiento más grande de una célula de una planta madura ocupando hasta el 95% del volumen total de la célula. El citosol en dichas células se observa como una delgada capa entre la membrana plasmática y la membrana vacuolar (Tonoplasto). La vacuola posee varias funciones dentro de la

célula: recicla componentes celulares, genera la turgencia celular, mantiene la homeostasis iónica, regula el pH citoplasmático, almacena Ca^{+2} y CO_2 y secuestra xenobióticos (Na y metales pesados, entre otros) (Maeshima, 2001; Neuhaus & Martinoia, 2001).

3.4.5 Interacciones entre “metales pesados” y “Nutrientes” al interior de las plantas.

Las plantas tienen diferentes mecanismos de respuesta ante la presencia de compuestos tóxicos como los metales pesados (Reed y Gadd, 1990). Entre ellos, destacan los mecanismos de exclusión, mineralización, reducción, solubilización, acumulación, quelación y traslocación (Salt *et al.*, 1995; Lytle *et al.*, 1998). Algunos son pasivos, como la adsorción por exclusión y otros son activos, es decir, que requieren energía metabólica para llevarse a cabo, como la acumulación, traslocación o relocalización. La traslocación es un tipo de alteración de un patrón de compartimentalización del metal, es decir, algunas plantas traslocan o transfieren el exceso de metal a las hojas viejas, otras limitan el transporte de la raíz al tallo.

La vacuola tiene un funcionamiento especial en el almacenamiento de metales. Los iones metálicos se transportan de manera activa al interior del tonoplasto como iones libres o como complejos metal – molécula quelante (Moreno y Devars, 1999).

La pared celular vincula la disminución de permeabilidad de la membrana celular, y en algunas ocasiones activa la extrusión, la absorción por orgánulos y vacuolas o complejación con agentes quelantes tales como las proteínas, por ejemplo, metalotioneinas y fitoquelaninas (Gekeler *et al.*, 1988; Rauser, 1990).

En los vegetales, el metal puede ser convertido a una forma menos tóxica mediante conversión química o por formación de complejos (quelación). Los diferentes estados de oxidación de los elementos tóxicos tienen características específicas para su absorción, transporte, retención o toxicidad.

El paso final para la acumulación de metales en vegetales es la retención de estos lejos de los procesos celulares que pueden interrumpir. La retención normalmente se da en las vacuolas, donde el complejo (metal – ligando) debe ser transportada a través del tonoplasto. Los metales también pueden permanecer en la pared celular en lugar de atravesar la membrana plasmática, ya que los sitios negativos de las paredes celulares interactúan con los cationes polivalentes (Wang y Evangelou, 1994).

3.5 Estrategias desarrolladas por las plantas en suelos contaminados con metales pesados

Las plantas exhiben tres estrategias básicas cuando crecen en suelos contaminados con metales pesados, sean estos esenciales o no (Baker 1981): exclusión, respuesta indicadora e hiperacumulación.

Es también por ello que el momento de la caracterización de las plantas se puede clasificar como tolerantes, indicadoras, acumuladoras e hiperacumuladoras.

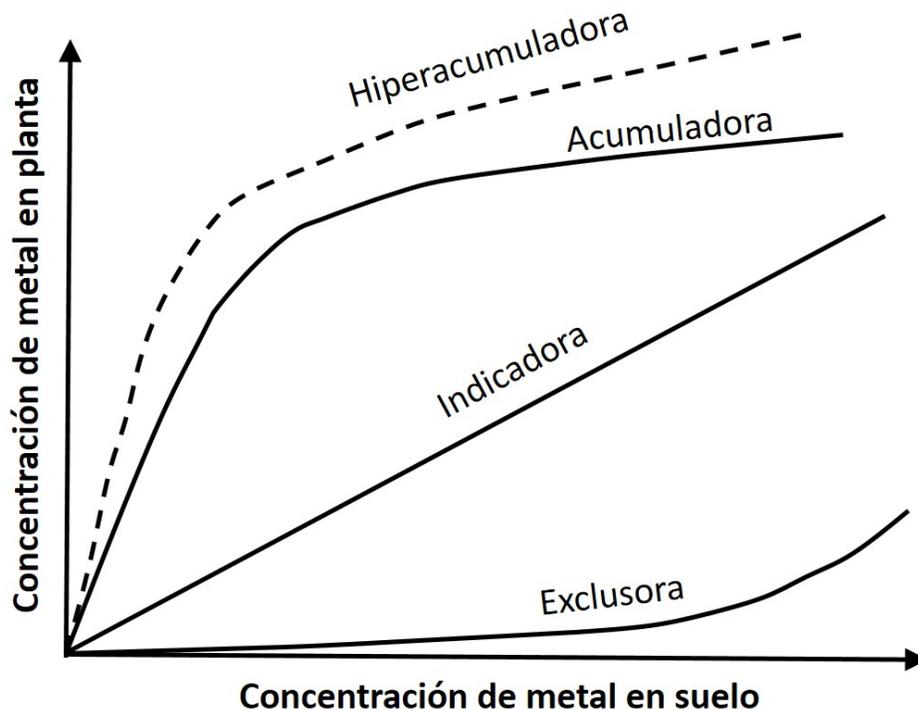


Ilustración 5. Respuestas típicas de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo (Adriano, 2001).

3.5.1 Plantas Tolerantes

Es aquella que crece en suelos con concentración de un elemento particular que es tóxica para la mayoría de las plantas. Si bien, las plantas indicadoras y las hiperacumuladoras son también tolerantes, se considera que los mecanismos involucrados genéticamente son diferentes (Assuncao *et.al.* 2001); sin embargo las especies tolerantes no son necesariamente indicadoras o hiperacumuladoras, ya que las plantas tolerantes no acumuladoras pueden excluir los metales de manera que no ingresen a los tejidos de las raíces.

3.5.2 Plantas indicadoras (acumuladoras)

Son las que absorben y transportan los metales a los tejidos aéreos cuando incrementa la concentración en el suelo (Baker 1981). Estas plantas toleran la concentración de metal existente mediante la producción de compuestos quelantes, o alterando los patrones de retención mediante el almacenamiento de metales en partes poco sensibles a la toxicidad por metales (Ghosh y Singh 2005).

En el Anexo 2 de la presente investigación son detalladas las especies indicadoras registradas en bibliografía para Latinoamérica.

3.5.3 Plantas hiperacumuladoras o metalófitas

Son plantas que absorben grandes cantidades de sustancias tóxicas, usualmente metales o metaloides, en sus brotes durante su crecimiento normal y reproducción (Reeves 1992, Baker y Whiting 2002).

Los metales pesados tales como el cobalto, el cobre, el hierro, manganeso, molibdeno, níquel y zinc son micronutrientes esenciales para los organismos vivos, pero a elevadas concentraciones estos elementos son tóxicos para las plantas superiores (Lambers *et.al.* 1998). Sin embargo, hay un grupo de plantas, llamadas hiperacumuladoras que dominan las áreas mineralizadas, naturales (ej. Suelos serpentínicos y ultramáficos) o antropofizadas (ej. Presas de relaves, áreas de influencia de fundiciones), que han desarrollado a través del tiempo mecanismos biológicos que las hacen tolerantes a concentraciones de metales que son tóxicas para la mayoría de las plantas (Reeves & Baker 2000). La tolerancia a los metales en plantas superiores ha sido tradicionalmente evaluada por pruebas estandarizadas de laboratorio para determinar el efecto de los iones metálicos en la elongación de sus raíces (ej. Baker & Walker 1989, Lambers *et.al.* 1998).

Usando esta metodología, numerosos estudios han identificado y cuantificado plantas superiores con tolerancia para cobre, cadmio, hierro, manganeso, níquel, plomo y zinc (ej. Allen & Sheppard 1971, Hogan *et.al.* 1977, Baker & Brooks 1989, Ginocchio *et al.* 2002).

En términos de la composición inorgánica, la mayor parte de las hiperacumuladoras son indiferentes a la riqueza mineral del ambiente o son mínimamente afectadas por una absorción ligeramente superior a la concentración de los elementos presentes en el suelo enriquecido (Reeves & Baker 2000). Sin embargo, algunas hiperacumuladoras pueden acumular muy altas concentraciones de elementos metálicos o metaloides en

sus tejidos aéreos, a niveles muy por encima de los requerimientos fisiológicos normales y muy en exceso de los niveles encontrados en la mayoría de las especies de plantas, siendo consideradas estas como tolerantes a los suelos mineralizados o metalíferos. Estas plantas son conocidas como hiperacumuladoras (Baker & Brooks 1989, Baker *et.al.*, 1999, Reeves & Baker 2000). Estas han desarrollado mecanismos eficientes de absorción de metales y efectivos métodos para el secuestro de metales en sus tejidos internos (Fernandez & Henriquez 1991, Ernst *et.al.*, 1992, Briat & Lebrun 1999). En realidad, algunas de estas plantas no pueden completar su ciclo biológico cuando crecen en suelos normales.

Tabla 2. Criterios para determinar Plantas Hiperacumuladoras (Baker y Brooks, 1989 y Kabata – Pendias y Pendias, 2000)

| Metal | Concentración (% de materia seca) |
|-----------------|--|
| Arsénico | > 0.1 |
| Cadmio | > 0.01 |
| Cobalto | > 0.1 |
| Cobre | > 0.1 |
| Plomo | > 0.1 |
| Manganeso | > 1.0 |
| Níquel | > 0.1 |
| Selenio | > 0.1 |
| Zinc | > 1.0 |

3.5.3.1 Características de las Especies hiperacumuladoras

Las hiperacumuladoras pueden tener una distribución geográfica muy estricta y por lo tanto pueden corresponder a especies raras (Reeves 1992). Son a menudo endémicas a pequeñas áreas de suelos metalíferos; algunas son conocidas de solo un sitio o han sido colectadas en solo pocas ocasiones (ej. Baker & Brooks 1988, Malaisse *et.al.* 1994, Létéinturier *et.al.*, 2001). Algunas variedades están adaptadas (ecotipos) de especies comunes (pseudohiperacumuladoras), como *Deschampsia caespitosa* (Cox & Hutchinson 1980, Bush & Barret 1993), *Holcus lanatus* (Baker 1984), and *Mimulus guttatus* (Allen & Shepard 1971, Macnair *et.al.*, 1993), y pueden ser ampliamente encontradas sobre medioambientes ricos en metales. Otras, sin embargo, son especies estrictamente restringidas a sus particulares provincias metalogénicas, como por ejemplo algunas especies de *Becium*, que solo crecen en afloramientos rocosos

aislados de cobre en la República Democrática de Congo (específicamente Zaire), África central (Brooks *et.al.*, 1992a).

Las plantas hiperacumuladoras representan un bajo porcentaje del total de angiospermas (menos del 0.2%), pero están ampliamente distribuidas en diferentes géneros y familias (Baker *et.al.*, 1999). Sin embargo, son raras en el reino vegetal. El fenómeno ha evolucionado así en varias ocasiones en muchos y diferentes grupos de plantas bajo el mismo tipo de estrés ambiental. Sus adaptaciones específicas para con los metales y su gran diversidad en términos de especies, familias y formas de vida, garantizan a las hiperacumuladoras un lugar especial en temas relacionados a la biodiversidad y la conservación de recursos genéticos. Sin embargo, la Taxa europea es bien conocida, la taxonomía y ecología de hiperacumuladoras tropicales y subtropicales se encuentran muy por detrás a pesar de la actividad minera cada vez mayor que tienen lugar en estas latitudes.

Tabla 3. Número de Taxas y Familias de Hiperacumuladoras en el mundo (Basada en los registros de Reeves & Baker 2000)

| Metal | Número de Taxa | Número de Familias |
|--------------|-----------------------|---------------------------|
| Arsénico | 2 | 1 |
| Cadmio | 1 | 1 |
| Cobalto | 28 | 11 |
| Cobre | 37 | 15 |
| Plomo | 14 | 6 |
| Manganeso | 9 | 5 |
| Níquel | 317 | 37 |
| Selenio | 20 | 7 |
| Zinc | 11 | 5 |

Las características comunes a estas plantas son: un rápido crecimiento; plantas resistentes y fáciles de arraigar y mantener; una alta capacidad de evapotranspiración (evaporación del agua a través de hojas) y la capacidad de transformar los contaminantes en productos no tóxicos o menos tóxicos. Entre las plantas más utilizadas están los álamos (*Alamus sp*), que tienen un rápido crecimiento, adaptación climática grande y la capacidad de absorber grandes cantidades de agua (en relación con otras especies). Esta última cualidad les permite manejar grandes cantidades de contaminantes disueltos, así como limitar la cantidad de agua que escapa más allá de la zona contaminada - lo que limita también la dispersión de la contaminación.

En 1999, Reeves *et.al.*, listaron 430 especies acumuladoras provenientes de 43 familias. Su número es mucho mayor: por ejemplo, hasta la fecha (2011) se conocen cerca de 320 plantas hiperacumuladoras de níquel. Los centros de biodiversidad están en Cuba (clima subtropical) y Nueva Caledonia (clima tropical). Muchas de las especies estudiadas por su acumulación de metales son Brassicaceas (clima templado y frío, hemisferio norte).

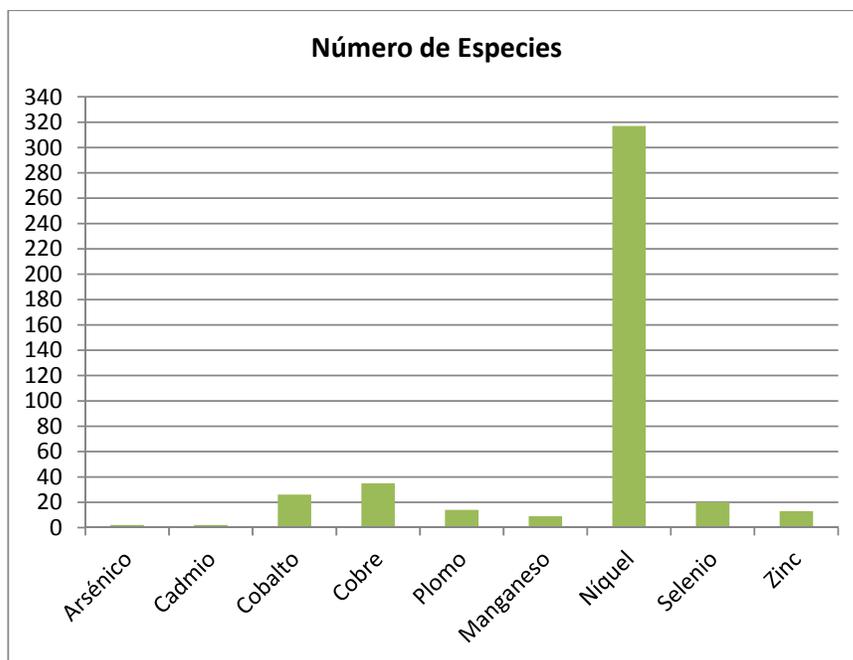


Ilustración 6. Número de especies encontradas por tipo de elemento (Elaboración propia)

3.5.4 Hipótesis sobre la ventaja adaptativa de la hiperacumulación para las plantas

Todos los organismos vivos están expuestos a diferentes tipos de estrés, los cuales pueden ser originados por la actividad del hombre o causas naturales como la contaminación del aire, sequía, temperatura, intensidad luminosa y limitaciones nutricionales. Debido a que las plantas poseen limitados mecanismos para evitar el estrés, estas han desarrollado vías flexibles para adaptarse a los cambios medioambientales (Zhu, 2001).

El estrés abiótico o ambiental, incluye desde deficiencias o excesos de agua y nutrientes minerales, pasando por altos contenidos salinos de los suelos, altas o bajas temperaturas extremas, excesiva radiación solar (PAR, UVB), excesiva alcalinización o

acidificación de los suelos y factores mecánicos (compactación de los suelos, viento, nieve, granizo) hasta la presencia de contaminantes químicos en los suelos (metales pesados, agentes xenobióticos, etc.) o en el aire (SO₂, O₃, óxidos de nitrógeno (NO_x), HF, nitrato de peroxiacetilo, etc.).

Hasta el momento son numerosos los estudios realizados para dilucidar las implicaciones a nivel molecular y los mecanismos bioquímicos que se desarrollan en los organismos vivos, a partir de este estrés ambiental (Iwata *et al.*, 2001; Jian *et al.*, 1997; Zhu 2002).

Existen varias hipótesis sobre el valor adaptativo de la hiperacumulación, pero la más actual es su función en la protección de la planta contra el estrés biótico causado por patógenos y herbívoros. Esta propuesta es muy atractiva para explicar la razón de ser de las plantas hiperacumuladoras, y difiere de la defensa química natural existente en todas las plantas, basada en la síntesis de productos orgánicos procedentes del metabolismo secundario (Meers *et al.*, 2004). Este tipo de protección requiere ciertas condiciones: la primera es que el metal sea más tóxico para el patógeno o herbívoro que para la planta; la segunda, que el metal impida la virulencia del patógeno o herbívoro, y finalmente, la tercera, que el metal incremente la resistencia de la planta frente al factor causante del estrés biótico.

3.5.5 Plantas Hiperacumuladoras y la Industria Minera

La interacción histórica entre las hiperacumuladoras y la industria minera es diversa y de muchos contrastes. Primero, la distribución restringida de las hiperacumuladoras a suelos metalíferos ha traído una interacción negativa con el sector minero, esto debido a que estas plantas crecen en los lugares de donde se extraen los minerales. Aunque el sector minero no es necesariamente la influencia más importante contra la diversidad de las plantas en alguna región en particular, la minería tiene siempre un impacto sobre la biodiversidad y, en algunos casos, los efectos pueden ser enormes e irreversibles, incluso en países industrializados con regulaciones ambientales bien desarrolladas.

De acuerdo a la WWF International & IUCN 1999, la minería amenaza al 38% de las áreas forestales con la construcción de carreteras y otras instalaciones. En efecto, la minería a cielo abierto ocasiona la eliminación total de la vegetación y el suelo vegetal en áreas muy extensas, aunque ahora se tomen muchas previsiones para más adelante llevar adelante una rehabilitación, tales impactos no se aproximan a aquellos

provocados por otros sectores como la ganadería y la agricultura, pues estos no necesariamente protegen el germoplasma de las especies hiperacumuladoras locales útiles para una rehabilitación. Por ejemplo, la extracción de acero en la Amazonía brasilera en el proyecto Grande Carajas ya ha afectado más de 90.000 km² de bosques (WWF International & IUCN 1999). La explotación a cielo abierto de cobre en el Congo, en África Central ha llevado a la extinción de un importante número de plantas hiperacumuladoras, endémicas a un solo sitio o un área muy restringida de distribución. Lo mismo ocurre en las áreas de explotación de ferroníquel en Loma de Hierro en Venezuela (Barreto & Casale; 2002) y la República Dominicana donde las plantas endémicas de suelos serpentinizados han sido completamente eliminadas debido a operaciones a cielo abierto (Distrito de Puerto Plata; Pequero & Clase; 2002).

La normativa para la protección del medio ambiente ha mejorado considerablemente en los países de Latinoamérica, incluido el nuestro pero aún no están establecidas claramente las reglas para la rehabilitación de las áreas mineras. Las mejores prácticas de rehabilitación en la región se han basado en la introducción de especies exóticas que han tenido variados efectos sobre las plantas nativas y el ecosistema o la introducción de especies exóticas que han de alguna manera mejorado el nivel de vida proporcionando árboles para leña, para carpintería o como alimento para el ganado. En algunos casos se ha producido la introducción de especies nativas que son capaces de sobrevivir en un ambiente minero, pero estos programas han considerado principalmente la identidad específica de las plantas y no su tolerancia a los metales o su potencial de acumulación.

Las hiperacumuladoras endémicas de áreas con composiciones de suelo bien definidos han sido usadas históricamente como indicadores geobotánicos para la exploración mineral. Por ejemplo, algunas de estas plantas han sido extensamente usadas en Europa y África Central para delinear sustratos metalíferos en la búsqueda de yacimientos metálicos (Brooks 1998). Mayores usos para las hiperacumuladoras por la industria minera han sido promovidos ya en la dirección del desarrollo sostenible y el cierre responsable de operaciones mineras en Europa y Norteamérica (Whiting *et al.*, 2002). Por un lado, las hiperacumuladoras endémicas pueden ser usadas en la revegetación y rehabilitación de áreas afectadas por la minería (fitorremediación) y por el otro, estas pueden ser usadas en la limpieza de metales tóxicos de los suelos (fitoextracción) o en la fitominería de bajo contenido mineral que no podría ser procesada de manera económica por otras técnicas (Baker *et al.* 1999, Tordoff *et al.*, 2000).

Los depósitos de desechos ricos en contenido metálico sobre los suelos por la industria minero metalúrgico (ejemplo, depósitos de relaves y desmontes), han generado nuevos hábitats para la potencial microevolución y colonización de variantes adaptadas de especies comunes y para la colonización de hiperacumuladoras (ej. Allen & Sheppard 1971, Baker 1984, Bush & Barret 1993, Ginocchio *et al.*, 2002). Antiguas operaciones mineras abandonadas han sido naturalmente colonizadas por lo que podrían verse como base de recursos genéticos únicos. El estudio de estas plantas, su comportamiento colonizador y su evolución observables en las operaciones antiguas ha originado mejoras en las estrategias de cierre y rehabilitación en zonas mineras de países desarrollados (ej. Gunn 1995).

3.5.6 Hiperacumuladoras en América Latina

Si bien nuestra región es muy rica en depósitos minerales, muy pocas plantas tolerantes a los metales o hiperacumuladoras han sido reportadas en comparación con otras regiones del mundo. Brooks (1993) muestra que en comparación con Norteamérica, Asia, Oceanía, Europa y África, los datos biogeoquímicos para sitios de actividad minera son muy pocos. Sin embargo se entiende que esto es debido no a la falta de especies, sino por el contrario, por la escasez de estudios científicos sobre la vegetación nativa que naturalmente desarrolla sobre estos suelos mineralizados o contaminados con residuos mineros. La información sobre hiperacumuladoras en Latinoamérica ha sido proporcionada por dos fuentes primordialmente: investigaciones científicas desarrolladas por botánicas y ecólogos y algunas evaluaciones desarrolladas por geólogos e ingenieros de minas. (Anexo 1)

De acuerdo a la investigación desarrollada por Ginocchio y Baker (2004), la búsqueda de plantas hiperacumuladoras en la región ha sido escasa; siendo 172 especies de plantas las que han sido descritas en la literatura como tolerantes a los metales (30 especies) e hiperacumuladoras (142 especies), número muy bajo comparado con la gran diversidad de especies de plantas en la región. La mayor parte de estas plantas son tolerantes o hiperacumuladoras de níquel y los estudios en general se han llevado adelante en suelos serpentinizados de Brasil, Cuba, República Dominicana y Venezuela; a continuación plantas tolerantes al cobre y al arsénico por investigaciones en Chile pero no han sido revelados datos sobre especies tolerantes a otros metales. Esto deja en claro que es muy poca la investigación que se ha realizado con relación a estas plantas y las últimas realizadas datan de 2002 (ej. Ginocchio *et al.* 1997 a 2000, Barreto & Casale 2002, Ortiz *et al.* 2002) tal vez debido a la falta de

interés por parte de los científicos o falta de incentivos por parte de las empresas mineras y/o los gobiernos.

3.5.7 Hiperacumulación y descontaminación de suelos

El objetivo original de investigar sobre plantas hiperacumuladoras ha sido identificar nuevos yacimientos minerales y aportar nuevas características fenotípicas para la identificación de especies. La primera cita de una hiperacumuladora de Ni apareció en el trabajo de Minguzzi y Vergnano (1948), con una concentración de hasta 1,2% Ni en hojas de *Alyssum bertolonii*. En 1969 Menezes Sequeira identificaba a *Alyssum serpyllifolium* subsp. *lusitanicum* (Menezes Sequeira, 1969). Mucho más tarde, Chaney y colaboradores introducían la idea de utilizar estas especies para la limpieza de suelos contaminados con metales (Chaney *et al.*, 1981a,b; Chaney, 1983).

La contaminación del agua, suelo y sedimentos es una consecuencia de una sociedad cada vez más industrializada. Los contaminantes que se liberan al medioambiente son tanto de naturaleza orgánica (compuestos xenobióticos tóxicos y persistentes, como los compuestos aromáticos policíclicos, múltiples pesticidas o compuestos organoclorados) como inorgánica (por ejemplo, los metales pesados). En las últimas tres décadas la comunidad científica ha desarrollado técnicas basadas en procesos biológicos asociados a las plantas. Este tipo de tecnología verde se conoce como fitorremediación, fitolimpieza ó fitocorrección (Baker *et al.*, 1994; Baker *et al.*, 2000; Brooks, 1998; Chaney *et al.*, 1997; Cunningham *et al.*, 1995; McGrath y Zhao, 2003; Pilon-Smits, 2005; Salt *et al.*, 1998; Vassilev *et al.*, 2004) y constituye una alternativa económica para la eliminación de los contaminantes del suelo, que posteriormente pueden ser reciclados o vertidos de una forma segura. Se estima que el coste de las técnicas de fitorremediación, es entre 10 y 1.000 veces menor que las técnicas tradicionales (Barceló y Poschenrieder, 2003). En la actualidad existe todo un conjunto de técnicas en el campo de la fitorremediación que son aplicables tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos.

El uso de plantas hiperacumuladoras ha dado lugar a la técnica conocida como fitoextracción natural; el cultivo de estas especies permite que el metal pesado sea extraído del suelo por la absorción vegetal y la siega posterior de su biomasa aérea. Una importante limitación de la aplicación práctica de la mayoría de las especies hiperacumuladoras en la fitoextracción es su escasa biomasa y crecimiento lento, ya que la capacidad de extracción de metal de una cosecha (rendimiento metálico) es el

producto de la biomasa aérea y el contenido de metal (Baker *et al.*, 2000; McGrath *et al.*, 2002).

El factor tiempo es, con mucho, el punto más crítico en la fitoextracción.

El aumento de la capacidad de fitoextracción de las plantas hiperacumuladoras podría conseguirse a través de: (1) el cultivo y reproducción de especies hiperacumuladoras seleccionadas; (2) la optimización de las prácticas de manejo del suelo y la cosecha; (3) la manipulación de las condiciones de la rizosfera y (4) el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y alta biomasa, con capacidad de absorción mejorada, a través de la ingeniería genética. Esta última medida podría conseguirse a través de la identificación y clonación de los genes responsables de la hiperacumulación de los metales pesados y su transferencia a plantas de cultivo de elevada productividad. Hasta la fecha, la aplicación más exitosa de la ingeniería genética ha sido la transformación de plantas con el gen bacteriano *merA* modificado para destoxificar Hg (II) (Barceló y Poschenrieder, 2003). Sin embargo, las objeciones ecológicas, sociales y legales a estos procedimientos son numerosas.

3.6 Limitaciones de las plantas

Cuando el concepto de fitoextracción fue introducido hace aproximadamente dos décadas atrás los cálculos de ingeniería sugerían que un plan de descontaminación en base a plantas de suelos con contaminación moderada requeriría cultivos capaces de concentrar metales en exceso de hasta un 1 a 2%.

La acumulación de tan altos niveles de metales pesados es altamente tóxica y con seguridad mataría a las plantas comunes no hiperacumuladoras. Sin embargo, en especies hiperacumuladoras, dichas concentraciones son toleradas. No obstante, la cantidad de metal removido del suelo está únicamente limitada por la habilidad de la planta para extraer y tolerar sólo una finita cantidad de metales. En base a su peso seco, el límite está alrededor del 3% para Zn y Ni y considerablemente menos para metales tóxicos como el Cd y Pb. Los demás parámetros biológicos que limitan el potencial para la fitoextracción de metales es la producción de biomasa. Con especies altamente productivas, el potencial de producción de biomasa está alrededor de hasta 100 Ton/ de peso fresco / Ha. El valor de estos parámetros limita el potencial anual de remoción a un máximo de 400 kg metal/Ha/año. También se debe mencionar, sin embargo, que la mayor parte de las especies hiperacumuladoras son de crecimiento lento y producen poca biomasa. Estas características limitan severamente el uso de plantas hiperacumuladoras para la limpieza de suelos contaminados.

3.7 Metales pesados y toxicidad en seres vivos

Todos los seres vivos pueden resultar seriamente afectados por la contaminación de metales pesados. Una creciente concentración de estos elementos en la cadena alimenticia puede provocar daños en la salud (cancerígenos o mutagénicos), aunque se sabe poco de su efecto crónico por consumo de pequeñas dosis durante largos periodos (Birley *et al.*, 1999). Según Hall (2002), la toxicidad causada por los metales pesados puede resultar de la unión de los metales con los grupos sulfhidrilo de las proteínas, ocasionando una disminución de la actividad, disrupción de la estructura o el desplazamiento de elementos esenciales ocasionando deficiencias. Además, una alta concentración de metales puede estimular la formación de radicales libres y especies oxígeno reactivas provocando un estrés oxidativo.

En plantas, los síntomas de fitotoxicidad más comunes son lesiones no específicas que varían según la especie y el metal. Williamson *et al.*, 1982 señala que las lesiones más importantes son la disminución del crecimiento, clorosis y menor desarrollo radicular. Sin embargo, Kabata – Pendias y Pendias, 2000, señalan que los contaminantes también pueden estar almacenados como compuestos inactivos en células y en la membrana, lo cual puede afectar la composición química de la planta sin causar una lesión fácilmente visible.

3.8 Fitotoxicidad

El término fitotoxicidad se ha asociado normalmente con la acumulación de una sustancia dañina en el tejido de una planta en niveles que afectan su crecimiento y normal desarrollo. Sin embargo, esta definición muchas veces no es adecuada por que las plantas presentan distintos grados de fitotoxicidad mostrando una gran variedad de síntomas durante su ciclo de crecimiento, existiendo distintos niveles de daño. Además, el crecimiento no sólo se ve afectado por la acumulación de sustancias tóxicas, sino que también hay factores medioambientales como deficiencias nutricionales, estrés hídrico, daño en raíces u otros, los cuales producen disminución del rendimiento (Naidu *et al.*, 2003). Chang *et al.*, 1992 indicó que para confirmar que existe fitotoxicidad por metales se requiere que:

- Las plantas sufran un daño.
- El metal potencialmente tóxico sea acumulado en el tejido del vegetal.
- Las anomalías observadas no correspondan a otros desórdenes del crecimiento de la planta, y

- Se observen los mecanismos bioquímicos que causan la toxicidad del metal en las plantas durante el ciclo de crecimiento.

En general, las plantas son mucho más resistentes a los incrementos en la concentración que a una insuficiencia de un elemento esencial dado. Distinto es el caso de un elemento no esencial, donde el nivel de daño aumenta conforme lo hace el elemento.

3.9 Plomo y Arsénico en las plantas

3.9.1 Plomo

Según lo reportado por varios autores, el plomo puede causar diversos daños en las plantas y en diferentes grados de acumulación (Kabata-Pendias, 2000; Rodriguez, *et al.*, 2006). En algunas especies la acumulación de plomo, a medida que se aumenta la dosis en niveles menores a 1000 mg de Pb por Kg de suelo, tiende a incrementarse rápidamente en los órganos de la planta que éstas no lo toleran y mueren. Los mecanismos de fitotoxicidad de Plomo están relacionados con la permeabilidad de la membrana celular, reacciones de grupos sulfidrilos (-SH) con cationes y afinidad para reaccionar con grupos fosfatos (Rodriguez, *et al.*, 2006).

En la mayoría de las plantas el Plomo es capaz de acumularse principalmente en las raíces siendo mínima su presencia en otras partes u órganos de los cultivos (Kabata-Pendias, 2000); aunque algunos otros autores han reportado trazas de este elemento incluso en granos como los de cebada (Lopez, *et al.*, 2005). De manera similar su disponibilidad para las plantas está en función del pH del suelo.

El plomo varía en los horizontes superficiales del suelo en un rango de 3 a 189 mg/Kg, mientras que los valores medios para tipos de suelo varían entre 10 a 67 mg/Kg con un promedio de 32 mg/kg. Davies, 1977 estableció que el límite superior para el contenido de plomo (Pb) en un suelo normal podría ser 70 mg/Kg.

3.9.2 Arsénico

Las plantas responden a la concentración de arsénico en la solución suelo. Al igual que la mayoría de los elementos trazas, el arsénico es fuertemente adsorbido por el suelo. La existencia de arsénico en altas concentraciones por lapsos prolongados de tiempo puede llevar a su acumulación en las plantas y en la capa superficial del suelo.

Típicamente, la concentración promedio de arsénico en la corteza terrestre es de aproximadamente 2 mg/Kg. Este se encuentra como arseniatos, con sulfuros y en

asociación con muchos otros minerales metálicos y ocasionalmente en su forma elemental (Guidelines for the interpretation of the biological effects of selected constituents in Biota, 1998).

Aunque bajas concentraciones de arsénico estimulan el crecimiento de la planta, éste no es esencial para su crecimiento. En altas concentraciones interviene en los procesos metabólicos de las plantas, pudiendo inhibir el crecimiento y frecuentemente llegar a la muerte de la planta (Tu y Ma, 2002). Sin embargo, los niveles de arsénico en vegetales, granos y otros cultivos son bajos, aun cuando los cultivos se desarrollen en suelos contaminados (O'Neill, 1995). El arsénico en el suelo se encuentra en formas móviles en el rango de pH 7 a 9.

El efecto principal del arsénico es la destrucción de la clorofila en el follaje como una inhibición de la producción de enzimas (Lopez *et al.*, 2005)

Concentraciones de nutriente de 0.5 – 10 mg/L se han encontrado tóxicos para varias especies de plantas (South African Water Quality Guidelines, 1996)

4 FITORREMEDIACIÓN

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 reconocida (Ernst, 2000).

Las fitotecnologías se basan en los mecanismos fisiológicos básicos que tienen lugar en las plantas y en los microorganismos asociados a ellas, tales como: transpiración, fotosíntesis, metabolismo y nutrición.

Según Thangavel y Subhram (2004), dependiendo del tipo de contaminante, las condiciones del sitio y el nivel de limpieza requerido; las tecnologías de fitorremediación se pueden utilizar como medio de contención (rizofiltración, fitoestabilización y fitoinmovilización) o eliminación (fitodegradación, fitoextracción y fitovolatilización).

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 degradadores. (Merkl *et al.*, 2004). 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 contaminantes (Frick *et al.*, 1999).

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 (Singh *et al.* 2003), 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 planta (McGrath *et al.*, 2001).

La fitorremediación aplicada a suelos contaminados con elementos o compuestos inorgánicos, incluye, básicamente, tres mecanismos: la fitoextracción o fitoacumulación, la fitoestabilización y la fitovolatilización (Singh *et al.*, 2003, Prasad y Freitas 2003).

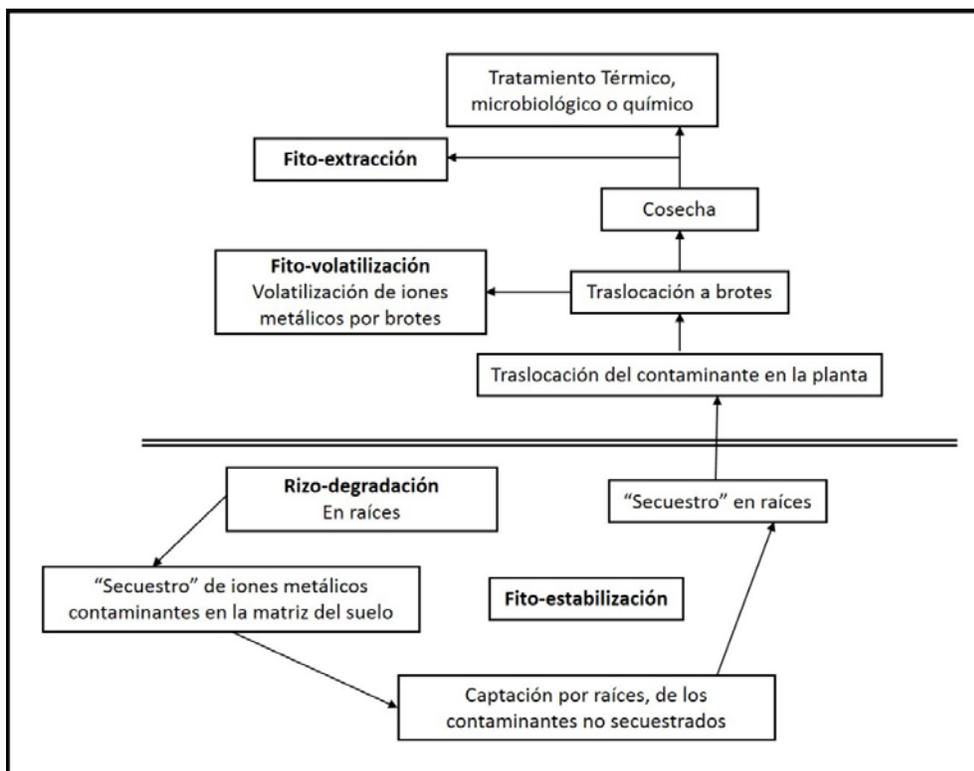


Ilustración 7. Esquema general de la descontaminación de iones metálicos en un proceso natural de fitorremediación (Singh *et al.*, 2003)

La fitorremediación por plomo ha sido detallada por McGrath (1998) quien describió el trabajo de Huang y Cunningham (1996) quienes usaron quelatos como el EDTA para complejar el plomo en suelos contaminados de manera que sea disponible para su absorción por las plantas en su forma complejada. De esta manera, las plantas con gran biomasa como el maíz (*Zea mays*) pueden ser usadas para remover el plomo de los suelos contaminados. Estas plantas crecen normalmente en ese tipo de suelos sin extraer grandes cantidades de plomo pero absorben cantidades mayores una vez que el EDTA es añadido al suelo. En esta etapa la planta comienza a morir, es entonces que debe ser cosechada para retirar el contaminante. La única prueba de campo publicada habiendo hecho uso de agentes de complejación para extraer plomo fue elaborada por Huang *et al.*, (1997) pero un servicio comercial está ya siendo ofertado por una compañía en Nueva Jersey – Estados Unidos.

4.1 Fitoextracción

La fitoextracción, también llamada fitoacumulación, implica la acumulación y la translocación de metales pesados de las raíces hacia las partes de la planta fácilmente cosechables, eliminando los metales del suelo (Bech et al., 2002; Barceló y Poschenrieder, 2003; Wong, 2003; Becerril et al., 2007 y Millán et al., 2007). Esta tecnología se ha propuesto para disminuir las concentraciones tóxicas de metales de suelos contaminados, para descontaminar y restaurar la fertilidad de áreas contaminadas. La fitoextracción mediante plantas hiperacumuladoras permite evitar excavaciones extensivas, elevados costes o pérdidas de suelo superficial, asociadas con las prácticas de remediación tradicional. Además, pueden ser un interesante recurso fitogenético (Blaylock et al., 1997; Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Estas plantas hiperacumuladoras son capaces de acumular cantidades significativas de metales pesados en su parte aérea, la cual posteriormente ha de ser cosechada y tratada como un desecho contaminado (Cunningham y Ow, 1996). Estas plantas son especies muy raras de encontrar en la naturaleza, ya que crecen generalmente en los sitios ricos en metales pesados con un limitado rango de distribución y muy vulnerables a la extinción. Por lo tanto, la pérdida de estas especies conlleva a la pérdida de esta capacidad de hiperacumulación que tal vez no pueda ser encontrada dentro de otra población de la misma especie (Reeves, 2006).

De las 290.000 especies vasculares descritas en la bibliografía, solo 440 han sido clasificadas como hiperacumuladoras. Esto corresponde a un porcentaje menor al 0,2% de las angiospermas (Ginocchio y Baker 2004; Becerril et al., 2007). Tres cuartos (alrededor de 317 especies) son hiperacumuladoras de Ni a causa de la extensiva ocurrencia de suelos ultramáficos ricos en Ni encontrados en muchas partes del mundo (Reeves, 2006), las cuales están englobadas mayoritariamente en sólo dos grupos: (1) especies y géneros pertenecientes principalmente a las familias Violaceae y Flacourtiaceae (Orden Violales) o Buxaceae y Euphorbiaceae (Orden Euphorbiales), de origen tropical, y (2) géneros pertenecientes a la familia de Brassicaceae (Orden Capparales), de la zona templada norte. Dentro de esta familia las hiperacumuladoras de Ni se concentran en el género *Alyssum*, con unas 48 especies capaces de acumular concentraciones de Ni de 0,1-3,0%, confinadas casi exclusivamente a la Sección *Odontarrhena* (Minguzzi y Vergnano, 1948; Brooks y Radford, 1978; Brooks et al., 1979; Vergnano Gambi et al., 1977). Dentro de este grupo la especie *Thlaspi caerulescens* Presl, hiperacumuladora de Zn y Cd ha sido muy estudiada en los últimos años (Lopareva, 2006).

Algunos avances importantes se hicieron en los últimos años, referidos al proceso de entendimiento de los procesos involucrados en la fitoextracción de metales desde suelos contaminados, especialmente en aquellos que contribuyen a la absorción e hiperacumulación de metales.

Sin embargo, muchos vacíos con respecto al conocimiento a la fisiología del suelo y sus componentes químicos y microbiológicos, tiene que ser resueltos antes de que la fitorremediación pueda convertirse en una tecnología comercial. Por ejemplo, un mejor entendimiento de la interacción que se produce en la rizósfera, será importante para el éxito definitivo de la fitoextracción, como una técnica apropiada para limpiar la superficie de los suelos. Se esperan futuros avances en este campo de investigación, que produzcan un impacto sustancial sobre el potencial de la fitoextracción. La identificación de exudados específicos asociados con la solubilización de metales en el suelo, puede facilitar la utilización de caminos alternativos para la manipulación de la rizósfera de la planta, y aumentar de esta manera la biodisponibilidad del metal.

El conocimiento completo de la tolerancia de la planta al metal, será esencial para desarrollar estrategias para incrementar genéticamente la habilidad de las plantas para la acumulación de metal. Esto tendrá significativas implicancias para la fitorremediación. Dado que la mayoría de las especies hiperacumuladoras conocidas, crecen lentamente y tiene biomasa pequeña, expresando sus genes acumuladores de metales en el crecimiento rápido, elevada biomasa de plantas, es una prometedora aproximación para desarrollar plantas que puedan ser utilizadas en la tecnología de fitoextracción. Las técnicas agronómicas para el exitoso crecimiento de plantas para la fitoextracción propuestas en la fertilización, mediante la aplicación de quelantes y prácticas para minimizar la propagación de metales a través de la cadena alimenticia, también se espera una investigación más detallada.

Podemos esperar que en un futuro cada vez más cercano, y gracias a las especies hiperacumuladoras transgénicas, estos problemas se puedan solucionar, desarrollando variedades artificiales a medida, que sean más tolerantes al contaminante, posean mayor eficacia absorbente, resistan al clima de la región que se desee descontaminar y acumulen el contaminante en las hojas y partes superiores de la planta, de forma que sea más fácil de recolectar. Por último, sería deseable que su cosecha se pudiera automatizar fácilmente y que el metal fuera recuperado para ser reciclado y obtener así un beneficio

En esta técnica, las plantas remueven toxinas, metales pesados y metaloides, por sus raíces y subsecuente transporte a los órganos aéreos (Salt *et al.*, 1998, Lombi *et al.*, 2001). Las plantas acumulan tanto en tallos como en hojas los contaminantes, posteriormente se cosechan y remueven del sitio. La fito-extracción se puede dividir en dos categorías: continua e inducida (Salt *et al.*, 1998).

En la fitoextracción continua las plantas hiperacumulan contaminantes en su ciclo biológico de manera natural, mientras que en la inducida, la movilidad y la absorción de contaminantes se incrementan mediante la adición de quelantes sintéticos al suelo. Se ha reportado que la adición de EDTA a suelos contaminados con metales pesados, incrementa la movilización y la posterior acumulación de Pb, Cd, Cr, Cu, Ni y Zn tanto en mostaza parda (*Brassica juncea*) como en girasol (*Helianthus annuus L.*). (Blaylock *et al.*, 1997; Turgut *et al.*, 2004).

La fitoextracción debe considerarse como una tecnología de largo plazo, que puede requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables. El tiempo requerido depende de la concentración y tipo de contaminante(s), de la duración del periodo de crecimiento y de la eficiencia de remoción de la especie utilizada y puede tomar entre uno y 20 años (Prasad y Freitas, 2003).

Esta técnica se encuentra todavía en su etapa inicial de investigación y de desarrollo. El número de pruebas de campo realizadas hasta la fecha es no obstante pequeña (Brown *et al.*, 2003), y está surgiendo como un método de rehabilitación atractivo debido a su simplicidad además su costo es relativamente bajo.

Entre las metodologías de limpieza para suelos contaminados por metales pesados, la técnica de fitoextracción a través de los tejidos de las plantas, presenta ventajas ecológicas y económicas. Esta opción de limpieza depende principalmente, de las condiciones del suelo y de la planta acumuladora (Pulfort y Watson, 1993). Para mejorar el proceso de fitoextracción, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelantes (Prasad y Freitas, 2003).

4.1.1 Rol de los exudados de la raíz en la fitoextracción de metales pesados

El conocimiento actual de la forma en la cual como los exudados de la raíz, ácidos orgánicos y quelantes sintéticos corregidos; potencian la fitoextracción de metales desde el suelo y su traslocación de la raíz hacia los brotes, es muy importante.

Mientras que la habilidad de las plantas para acumular metales hasta cierto punto depende de su capacidad para tolerar elevados niveles de metal, hasta cierto punto dependiente de su capacidad para tolerar elevados niveles de metal en los tejidos, algunos mecanismos implicados en la acumulación por parte de las plantas, parecido a la compartimentación en la vacuola y la quelación en el citoplasma, deben también investigarse (Warsel *et al.*, 2003). El conocimiento acerca de los procesos rizosféricos más complejos mediados por exudados de la raíz, no se pueden desarrollar sobre el mismo avance referido al conocimiento de la biología de las raíces (Bais *et al.*, 2004), y muchos buenos sistemas de fitoextracción permanecen para su investigación. Sin embargo el destino de los exudados en la rizósfera, y las reacciones naturales involucradas en la fitoextracción y el buen transporte de metales por las plantas, aún no es entendido completamente, esto es admitido porque ellos contribuyen significativamente para la acumulación de metales en las plantas. Los compuestos químicos que probablemente se encuentran en la rizósfera están claramente asociados con el incremento de la absorción de metales desde el suelo y su traslocación a las raíces (Mench & Martin, 1991; Salt *et al.*, 1995; Krishnamurti *et al.*, 1997; Lin *et al.*, 2003; Wensel *et al.*, 2003).

El bajo peso molecular de los ácidos orgánicos probablemente indica que los exudados son los más importantes en los sistemas de fitoextracción natural. Ellos influyen la adquisición de metales por cualquiera de los complejos formados con iones metálicos o disminuyendo el pH alrededor de las raíces y alterando las características del suelo. Sin embargo a pesar del hecho de que la absorción de metales puede ser incrementada debido a la disminución del pH (Brown *et al.*, 1994), está claro que la compleja capacidad de los ácidos orgánicos, antes que su capacidad para disminuir el pH, es el principal factor relacionado con la movilización de los metales en el suelo y su acumulación en las plantas (Bernal *et al.*, 1994; Mc Grath *et al.*, 1997; Gupta *et al.*, 2000; Quartancci *et al.*, 2005).

Un ejemplo de los exudados que pueden ser originados por las raíces de las plantas son los ácidos orgánicos de bajo peso molecular como el ácido málico, tartárico, cítrico, glucónico y láctico, que han sido identificados en las raíces de vegetales comunes, cereales y soya. La importancia de los agentes quelantes en el suelo, se debe a su capacidad para incrementar la solubilidad de cationes metálicos, logrando así que las raíces de las plantas los absorban fácilmente, pero cuando la concentración de metales disponibles en el suelo es excesiva, las plantas pueden

presentar síntomas de toxicidad como respuesta al estrés ocasionado por los mismos (Ann *et al.*, 2005).

Algunas plantas liberan quelantes metálicos específicos o reducen compuestos dentro de la rizósfera para ayudar a la absorción de Fe y Zn, cuando la disponibilidad de estos micronutrientes es baja (Marschner, 1995). Otro estímulo ambiental que tiene que asociarse con la exudación de ácidos orgánicos de las raíces, incluyendo la anoxia (Marschner, 1995) y la exposición a Al (Ma, 2000; Piñero *et al.*, 2002). Esto significa que los metales acumulados pueden incrementar la solubilidad por liberación de quelantes desde las raíces. Sin embargo, solamente algunos reportes, sobre la implicancia de exudados específicos en la absorción y acumulación de metales potencialmente tóxicos por las plantas, son poco conocidos. En suma, los coeficientes de exudación y composición química de los exudados hiperacumuladores son virtualmente desconocidos.

4.2 Fitoestabilización

La Fitoestabilización, inmovilización “in situ” o fitorestauración, se define como el uso de plantas para inmovilizar metales pesados a través de la absorción y acumulación en las raíces o precipitación dentro de la rizósfera con el objetivo de restaurar el suelo (Barceló y Poschenrieder, 2003; Wong, 2003; Alkorta *et al.*, 2004). Baker (1981) ha denominado a este tipo de plantas exclusoras. Sin embargo, Bradshaw y Mcneilly (1985) difieren de esta nomenclatura, señalando que las raíces estas plantas contienen un elevado contenido de metales, con lo cual no existe un mecanismo de exclusión. Sin embargo sugieren que puede existir un tipo de mecanismo en las raíces de estas plantas tolerantes, que limita la circulación de metales hacia la parte aérea de la planta.

La Sociedad para la restauración ecológica (SER - España) define la restauración ecológica como un proceso de ayuda a la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, dañado o destruido; mediante la revegetación de áreas estériles con cultivos resistentes que puedan cubrir eficientemente el suelo, previniendo así la migración de partículas contaminantes y la erosión eólica, además de reducir la diseminación de contaminantes. Esta técnica disminuye el impacto visual, debido a que cubren la superficie del suelo, de esta manera, las raíces lo estabilizan físicamente para prevenir la erosión, reducir la percolación del agua, prevenir el contacto directo con el suelo, aumentar la biodiversidad, mejorar la deposición

orgánica y el ciclo de nutrientes, beneficiando la superficie del suelo y dejando los metales inactivados en el lugar (Barceló y Poschenrieder, 2003 y Mench *et al.*, 2006).

Este proceso reduce la movilidad del metal y, por tanto, disminuye la biodisponibilidad de entrada a la cadena alimentaria y mejora las condiciones de atenuación natural (Millán, 2007; Wong, 2003).

Las condiciones sugeridas por Ranskin y Ensley (2000) para clasificar a las plantas dentro de la categoría de las exclusoras son:

- Alta tolerancia a los metales pesados.
- Especie perenne, con un largo ciclo de vida y capacidad para autopropagarse.

Mench *et al.*, (2006) añaden que las plantas exclusoras deben tener una relativa larga vida y una habilidad para autopropagarse, y estar disponibles comercialmente

4.3 Ventajas y Limitaciones de la Fitorremediación

La fitorremediación, por sí misma, muestra una serie de ventajas y limitaciones en comparación con otras tecnologías convencionales. Las fitotecnologías son especialmente útiles para su aplicación en grandes superficies, con contaminantes relativamente inmóviles o con niveles de contaminación entre medio y bajo, y deben considerarse procesos de recuperación a largo plazo.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de la Fitorremediación

| Ventajas | Desventajas |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Se puede realizar in situ y ex situ. 2. Se realiza sin necesidad de transportar el sustrato contaminado, con lo que se disminuye la diseminación de contaminantes a través del aire o del agua. 3. Es una tecnología sustentable. 4. Es eficiente tanto para contaminantes orgánicos como inorgánicos. 5. Es de bajo costo. 6. No requiere personal especializado para su manejo. 7. No requiere consumo de energía. 8. Sólo requiere de prácticas agronómicas convencionales. | <ol style="list-style-type: none"> 1. En especies como los árboles o arbustos, la fitorremediación es un proceso relativamente lento. 2. Se restringe a sitios de contaminación superficial dentro de la rizósfera de la planta. 3. El crecimiento de las plantas está limitado por concentraciones tóxicas de contaminantes, por lo tanto, es aplicable a ambientes con concentraciones medias y bajas de contaminantes. 4. En el caso de la fitovolatilización, los contaminantes acumulados en |

| | |
|--|---|
| <p>9. Es poco perjudicial para el ambiente.</p> <p>10. Actúa positivamente sobre el suelo, mejorando sus propiedades físicas y químicas, debido a la formación de una cubierta vegetal.</p> <p>11. Tiene una alta probabilidad de ser aceptada por el público, ya que es estéticamente agradable.</p> <p>12. Evita la excavación y el tráfico pesado.</p> <p>13. Se puede emplear en agua, suelo, aire y sedimentos.</p> <p>14. Permite el reciclado de recursos (agua, biomasa, metales).</p> | <p>las hojas pueden ser liberados nuevamente al ambiente.</p> <p>5. Los contaminantes acumulados en maderas pueden liberarse por procesos de combustión.</p> <p>6. No todas las plantas son tolerantes o acumuladoras.</p> <p>7. La solubilidad de algunos contaminantes puede incrementarse, resultando en un mayor daño ambiental o migración de contaminantes.</p> <p>8. Se requieren áreas relativamente grandes.</p> <p>9. En sistemas acuáticos se puede favorecer la diseminación de plagas, tales como los mosquitos.</p> |
|--|---|

4.4 Mejoramiento de plantas para la Fitorremediación

Se ha sugerido que la fitorremediación podría rápidamente volverse comercial si las propiedades de las plantas de acumular metales pudieran ser transferidas a especies con elevada generación de biomasa como la mostaza (*Brassica juncea*) o el maíz (*Zea mays*) (Brown *et al.*, 1995). La biotecnología ya ha tenido éxito manipulando la absorción de metales y las propiedades de tolerancia en numerosas especies, por ejemplo: el tabaco (*Nicotiana tabacum*) que aumentó su tolerancia a los metales usando la melatonina de los mamíferos, proteínas que facilitan la unión de los metales y algunos genes (Lefebvre *et al.*, 1987; Maiti *et al.*, 1991).

Posiblemente, la aplicación más espectacular de la biotecnología en la remediación de ambientes fue la bioingeniería de plantas capaces de volatilizar el mercurio de un suelo contaminado con metil mercurio. El metil mercurio es un agente neurotóxico fuerte, que fue biosintetizado en suelos contaminados por mercurio. Para detoxificar esta toxina, plantas transgénicas (*Arabidopsis* y tabaco) fueron manipuladas genéticamente para que expresaran genes bacterianos que convirtieron al mercurio en una forma volátil menos tóxica y que fue liberada a la atmósfera (Rugh *et al.*, 1996; Heaton *et al.*, 1988).

Si bien el uso o aplicación de este tipo de tecnología en plantas se hallan restringidos, esta investigación mostró el gran potencial de la biotecnología en la restauración de sitios contaminados.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

Se han estudiado suelos y tres especies de plantas espontáneas procedente de la zona denominada Khasa Pampa, en las llanuras de inundación del Río Negro, afectada en una superficie de aproximadamente 100 Has por los relaves acumulados de los trabajos mineros desarrollados aguas arriba en la Comunidad de Pulacayo.

5.1.1 Pulacayo

Pulacayo es un Cantón ubicado en el Municipio de Uyuni de la provincia Antonio Quijarro en el departamento de Potosí, al suroeste de Bolivia. Geográficamente se halla a 22 Km de Uyuni y a 198 Km de la ciudad de Potosí, está rodeado de serranías pertenecientes a la Cordillera de Chichas, los más conocidos son el Cerro Paisano y el Cerro Pupuzani.

Debido a que se halla en un área de cañada de la Cordillera de Chichas, está a una altitud de 4200 msnm con un clima típico de las zonas andinas: frío, seco y de vientos fuertes durante casi todo el año; las temperaturas oscilan entre 5° y 12°C.

5.1.2 Marco Geográfico

El área de investigación se encuentra ubicada aproximadamente a 33 Km, por carretera al noreste de la Población de Uyuni. Tiene una extensión aproximada de 100 Has. Que forman parte de la Primera Sección Uyuni y Segunda Sección Tomave de la Provincia Antonio Quijarro del Departamento de Potosí.

Se puede acceder a la zona mediante carretera desde la ciudad de Potosí, se recorren 180 Km de carretera asfaltada. Asimismo desde la ciudad de Oruro por carretera de tierra con un recorrido de 323 Km; finalmente, mediante el ramal ferroviario existente que une a la ciudad de Oruro pasando por las estaciones de Sevaruyo – Río Mulatos con la localidad de Uyuni, punto desde el cual debe continuarse por carretera asfaltada (Carretera Potosí – Uyuni) hasta la población de Pulacayo y 13 Km adicionales hasta la zona de estudio.

Topográficamente, su configuración fisiográfica corresponde a la Cordillera Oriental de los Andes, ubicándose específicamente el área en cuestión en sus estribaciones occidentales, localmente en el extremo sur de la Cordillera de Los Frailes, formando serranías onduladas de un relieve topográfico moderado de una altura que varía entre los 3700 y 4600 msnm., entre las partes más bajas y elevaciones del sector.

5.1.3 Marco Climático

La región donde se encuentra el área de estudio se ubica localmente en el extremo sur occidental de la Cordillera de los Frailes y próximo al borde oriental de la zona altiplánica corresponde a una zona donde impera un clima frígido y seco, que de acuerdo a la clasificación de climas de Wladimir Koppen , corresponde a un clima de estepa con invierno seco y frío (BSwk), con precipitaciones pluviales que se manifiestan principalmente en forma de nevada, originando cambios pronunciados de temperatura; de igual manera, según la clasificación de zonas pluviométricas, el área corresponde a una zona seca en primavera, invierno y otoño.

La estación meteorológica más cercana se halla en Uyuni cuya ubicación está en las coordenadas geográficas Latitud Sur 20°27' y Longitud Oeste 66°49', a una altitud de 3660 msnm.

Los valores registrados para los años (2007 – 2012) pueden resumirse de la siguiente manera:

- Una temperatura máxima extrema que varía entre 25.8°C en verano (febrero) a 13.32°C en invierno (junio), con un valor promedio anual de 21.82°C.
- Una temperatura mínima extrema de 1.38°C en verano (enero) que varía a -15.66°C en invierno (junio) indicando un valor promedio anual de -7.10°C.
- La temperatura media muestra valores que oscilan entre los 13.54°C en veranos (enero) a 2.02°C en invierno (junio) con un término medio de 8.12°C.
- La precipitación media anual alcanza a 221.44 mm., con una mayor concentración entre los meses de diciembre a febrero.
- La dirección predominante del viento es al noroeste con una velocidad de entre 7.41 a 14.82 km/h, indicando una dirección media NW con una velocidad media anual de 11.1 km/h.
- La humedad relativa de la región oscila entre 36% en el mes de junio al 55.8% en el mes de febrero con un valor medio de 43.4%.

5.1.4 Vegetación

La presencia de flora de manera general en el área del estudio es pobre y escasa, debido principalmente al efecto de la actividad minera, las condiciones climatológicas y la calidad de los suelos poco aptos para el desarrollo de la vida vegetal.

Las especies de tipo predominante corresponden a la paja brava (*Festuca orthophylla*), la thola (*Baccharis incarum*) y la lampaya (*Lampaya medicinallis*).

En la zona no existe actividad agrícola significativa, reduciéndose al uso local de la vegetación a las especies semileñosas como fuente energética en la combustión por las escasas viviendas presentes por la zona.

En la llanura inundable existe Chiji (*Distichlis humilis*), Thola (*Baccharis incarum*). En el piedemonte existen thola (*Baccharis incarum*), paja brava (*Festuca orthophylla*), canlla (*Adesmia spinosissima*) y chiji (*Distichlis humilis*). Entre la transición entre dunas y piedemonte a orillas de la llanura sobre el río Negro existen Lampaya (*Lampaya medicinallis*) con una cobertura del 22%, paja brava (*Festuca orthophylla*) con una cobertura del 20% y el suelo desnudo que predomina con un 58%. En las cimas y laderas de las colinas que rodean la zona de estudio existen canlla (*Adesmia spinosissima*) 43%, chuquirago 2.60%, thola (*Baccharis incarum*) 21.60%, chiji (*Distichlis humilis*) 5.40% y suelo desnudo 27%.

Para la evaluación de especies se desarrollaron dos cuadrantes de 10 x 10 metros para determinar un inventario de la población, cuyas especies cuantificadas representan de manera aproximada el comportamiento promedio de los vegetales de la zona de estudio.

Cuadrante 1

El mismo fue localizado a orillas de la llanura sobre el río Negro, en una transición entre dunas y el pie de monte. Las coordenadas del punto son 753135 N y 7735584 E, a una altitud de 3782 msnm.

Tabla 5. Evaluación de la vegetación en el área de estudio – Cuadrante 1

| Especie | Nombre Científico | Frecuencia | % de Cobertura |
|-----------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------------|
| Lampaya | <i>Lampaya medicinallis</i> | 10 | 22.22 |
| Paja brava – Iru Ichu | <i>Festuca orthophylla</i> | 9 | 20.00 |
| Suelo desnudo | | 26 | 57.88 |
| TOTAL | | 45 | 100% |

Los suelos de este sitio son de textura gruesa (arenosos a franco arenosos) con presencia de gravilla y algo de piedra en todo el perfil, son suelos sueltos, sin estructura definida, con elevada permeabilidad y baja capacidad de retención de humedad.

Estos suelos no tienen aptitud agrícola y sólo algunos camélidos pastorean por la zona de manera ocasional, son suelos de protección con clase VII y VIII, con limitaciones de clima, suelo y erosión fundamentalmente eólica, especialmente por la poca cobertura vegetal.

Cuadrante 2

Localizado en las laderas de una colina sobre el borde izquierdo del río Negro. Las coordenadas del punto son: 752234 N y 7735774 E a una altitud de 3802 msnm.

Tabla 6 Evaluación de la vegetación en el área de estudio – Cuadrante 2

| Espece | Nombre Científico | Frecuencia | % de Cobertura |
|---------------|-------------------------------------|------------|----------------|
| Kainlli | <i>Tetraglochin cristatum</i> | 60 | 32.43 |
| Chuquirago | <i>Chuquirago atacamensis</i> | 5 | 2.70 |
| Thola | <i>Lephydophyllum quadrangulare</i> | 40 | 21.62 |
| Chiji | <i>Distichlis humilis</i> | 10 | 5.40 |
| Phulica | <i>Parastrephia cuadrangularis</i> | 20 | 10.81 |
| Suelo desnudo | | 50 | 27.03 |
| TOTAL | | 185 | 100% |

De manera similar al anterior cuadrante, esta unidad presentó suelos superficiales, con contenidos importantes de arena, gravilla, grava y piedra, que imposibilitan la retención de humedad y nutrientes, debido a ello su baja fertilidad siendo considerado suelos clase VI y VII, tierras No Arables que requieren prácticas de conservación.

Estos suelos por su textura y bajo contenido de materia orgánica, son muy susceptibles a la erosión hídrica y eólica, especialmente debido a la poca cobertura vegetal con la que cuentan.

5.1.4.1 Especies espontáneas colectadas durante la prospección

En los relaves del río Negro se recolectaron tres especies de plantas

Parastrephia cuadrangularis – Phulica – 7 ejemplares

Lampaya Medicinallis – Lampaya – 2 ejemplares

Festuca orthophylla – Paja brava, Paja brava – 2 ejemplares

Las especies fueron recolectadas siguiendo la transecta planteada con rumbo NO a SE en función de su presencia y/o ocurrencia espontaneas en el sitio de estudio, asimismo fue extraída una de cada especie para su respectiva clasificación en el Herbario Nacional de Bolivia (LPB).

***Parastrephia quadrangularis* (Meyen) Cabrera** (Nombre Común: Phulica)

Familia: Asteraceae



Es un arbusto con flores amarillas de 14 o más pétalos, tiene una altura promedio de 30 cm. Esta especie crece en condiciones de gran altitud y clima seco.

Su uso se limita a servir de leña y de alimento para el ganado camélido de la zona.

Lampaya medicinallis (Nombre Común: Lampaya)

Familia: Verbenaceae



Fotografía 2. *Lampaya medicinallis* – Lampaya

Es un arbusto con flores azules de 5 pétalos, tiene una altura promedio de 1 metro. Se caracteriza por crecer sobre dunas de arena que es enriquecida de materia orgánica por la misma planta.

En la zona de estudio, el desarrollo de sus raíces se halla por encima del nivel de los relaves, considerándose totalmente superficial.

Su crecimiento está limitado a elevadas altitudes y clima árido y seco.

Su uso es medicinal y como combustible.

Festuca orthophylla (Nombre Común: Paja brava, Paja Brava)

Familia: Poaceae



Fotografía 3. *Festuca orthophylla* – Paja brava, Iru Ichu

Consta de espiguillas florales rectas que aparecen entre los meses de diciembre a marzo, tiene una altura promedio entre 20 a 50 cm. Se caracteriza por tener macollos de hojas entre pardas a plumizas con bordes muy ásperos, erectas y aciculadas de 5 a 15 cm de largo y 1 a 2 mm de ancho.

Su crecimiento, de similar manera a las anteriores especies está limitado a la altitud, climas secos y suelos áridos.

5.1.5 Suelos

En la llanura del río Negro los suelos, han sufrido una degradación alarmante por la acumulación paulatina de los relaves durante décadas. Los suelos de esta amplia llanura, por la cantidad de los relaves acumulados sobre este (en algunos casos alcanzan como promedio un metro de espesor), han perdido sus cualidades y por consiguiente su capacidades productivas, situación que ha provocado la desaparición de bofedales, gramadales y tholares y por consiguiente afectando de gran manera la producción ganadera de la zona (Minco, 2007).

Los suelos no afectados en la zona (principalmente al final de la subcuenca y antes de su confluencia con el río Escalera) presentan las siguientes características:

En la Llanura No inundable, los suelos que se han formado sobre las terrazas aluviales, son de texturas medianas a finas, con predominio de limo, son moderadamente profundos a profundos, con contenidos bajos de materia orgánica. En general son suelos de fertilidad media. Por su ubicación en el espacio, al estar afectados en todo su perfil por la acumulación de sales y/o sodio y por la incidencia de las heladas, estos suelos no son arables y más bien se las puede clasificar dentro de las Tierras No Arables, y su aptitud está orientada más para la ganadería. Los Suelos de esta zona tienen limitaciones de clima, suelo y erosión (por textura).

Mientras que en la Llanura Inundable, y donde no ha llegado la contaminación, los suelos son orgánicos, debido a la acumulación de materia orgánica por la vegetación de bofedales, presentan una napa freática superficial, que impide su uso para fines agrícolas. Por la alta contaminación de las aguas subterráneas y una conexión con las áreas contaminadas por drenajes naturales, estas zonas son muy escasas y por consiguiente el pastoreo de ganado se ve más afectado (Minco, 2007)

5.2 Métodos

5.2.1 Muestreo de Plantas

Dado que el área seleccionada se halla completamente cubierto de relaves con diferentes potencias el suelo tiene una escasa a nula presencia de vegetación. La presencia de algunas especies esporádicas es lo que motivo la realización de la presente investigación, por lo que las muestras fueron seleccionadas en base a su ocurrencia espontánea en el área de interés.

Para cubrir el área de estudio se usó el método de transectos en sentido NW a SE, de 3.5 Km., de longitud. A partir de esa línea media, se recorrieron diferentes distancias a izquierda y derecha en función de la aparición de las especies de interés.

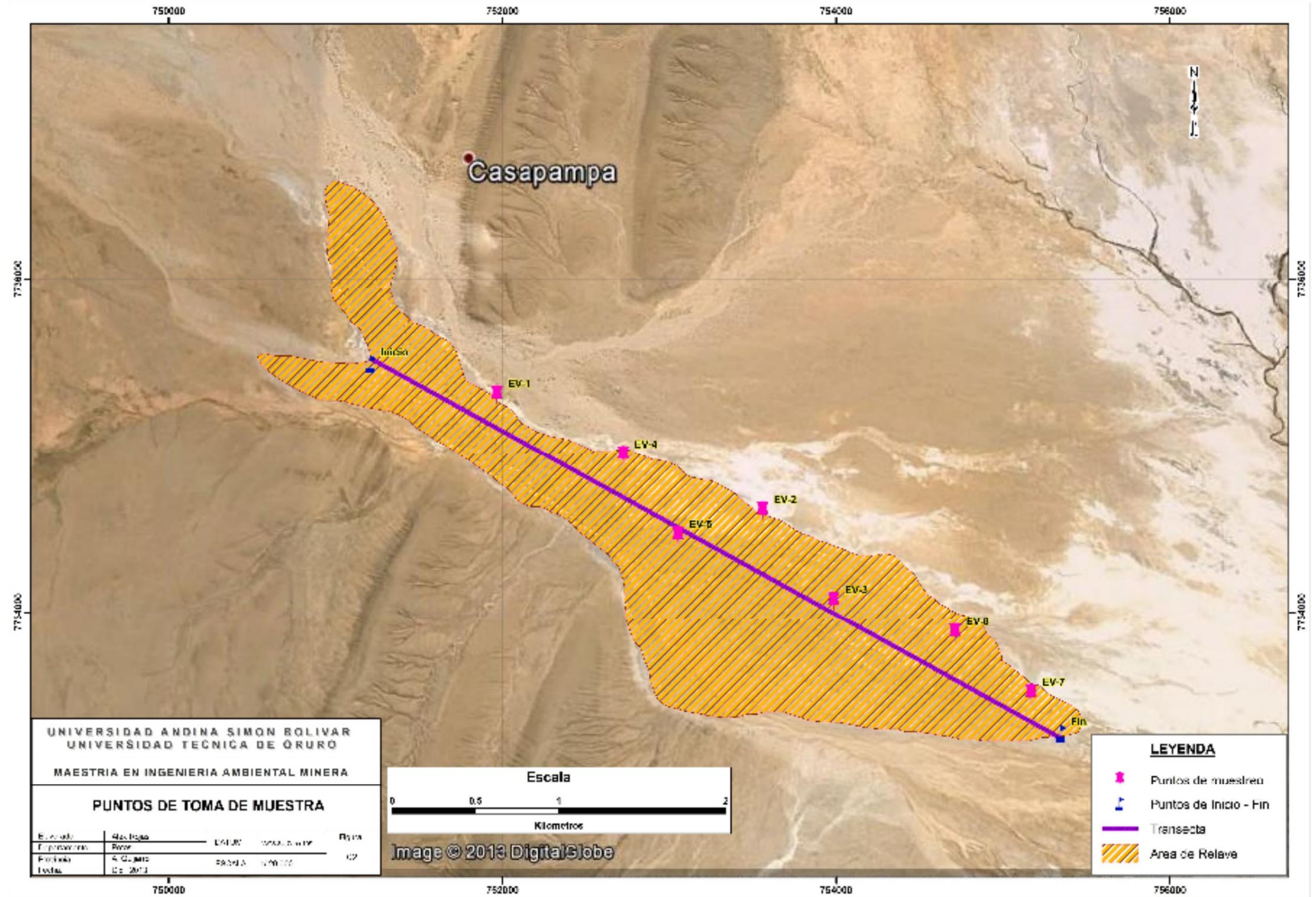


Tabla 7. Ubicación de las especies espontáneas recolectadas (WGS 84 – Zona 19)

| Código | Familia | Especie | Coordenadas | |
|--------|-------------|------------------------------------|-------------|------------|
| | | | Este | Norte |
| EV-01 | Asteraceae | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 751966.92 | 7735298.76 |
| EV-02 | | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 753560.84 | 7734601.94 |
| EV-03 | | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 753985.86 | 7734061.05 |
| EV-04 | | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 752724.96 | 7734935.66 |
| EV-05 | | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 753052.68 | 7734453.95 |
| EV-06* | | <i>Parastrephia quadrangularis</i> | 748882.34 | 7737324.09 |
| EV-07 | Poaceae | <i>Festuca orthophylla</i> | 755169.64 | 7733507.06 |
| EV-08 | Verbenaceae | <i>Lampaya medicinallis</i> | 754713.59 | 7733870.36 |

(*) Testigo

5.2.2 Muestreo de Suelo / Sedimentos

En la prospección inicial del área se verificó que no existen horizontes edafológicos en la zona de estudio, lo que no permite analizar a este factor como recurso suelo. En todos los casos, corresponde a suelos enterrados por relaves mineros y desde el punto de vista agronómico y edáfico no corresponden a tal estimación. Por tal motivo se denominó capa al estrato superficial en el cuál se desarrollaron las especies localizadas

Se recolectó aproximadamente 1 Kg., de cada muestra de sedimento, del mismo sitio en donde fueron recolectadas las plantas (SV-01 al SV-06) a una profundidad entre 0 y 20 cm. No se obtuvieron muestras de suelo de las especies EV-07 y EV-08.

Las muestras de sedimento fueron entregadas a laboratorio Spectrolab de Oruro. Los elementos a analizar fueron el arsénico y el plomo que fueron seleccionados en base a que estos fueron los de mayor concentración en pruebas desarrolladas por anteriores investigaciones.

Tabla 8. Ubicación de los puntos de toma de muestra de suelos

| Código | Coordenadas | |
|----------|-------------|------------|
| | Este | Norte |
| SV-01 | 751966.92 | 7735298.76 |
| SV-02 | 753560.84 | 7734601.94 |
| SV-03 | 753985.86 | 7734061.05 |
| SV-04 | 752724.96 | 7734935.66 |
| SV-05 | 753052.68 | 7734453.95 |
| SV-06(*) | 748882.34 | 7737324.09 |

(*) Testigo

5.3 Análisis Químico de las Muestras

5.3.1 Plantas

El método de análisis usado en laboratorio estuvo basado en la norma EPA 7062 (Espectrofotometría de absorción atómica – generación de hidruros) para arsénico y norma EPA 7420 (Espectrofotometría de absorción atómica – aspiración directa) para plomo.

5.3.2 Suelo

El método de análisis usado en laboratorio estuvo basado en la norma EPA 7062 (Espectrofotometría de absorción atómica – generación de hidruros) para arsénico y norma EPA 7420 (Espectrofotometría de absorción atómica – aspiración directa) para plomo.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el marco del Alcance planteado para el presente trabajo de investigación se ha efectuado la recolección de las especies vegetales espontáneas encontradas en el área de Estudio. Estas plantas fueron enviadas al laboratorio y realizado el análisis respectivo para la detección de dos potenciales elementos contaminantes, arsénico y plomo, que fueron previamente declarados en la Auditoría de Línea Base Ambiental (ALBA) del Proyecto Pulacayo – Paca (Minco, 2007) como los elementos con mayor presencia en los relaves del río Negro.

6.1 Metales pesados en los relaves del Río Negro

Los relaves de granulometría más fina fueron transportados por erosión hídrica hacia la microcuenca baja, denominada Khasa Pampa, lo que provocó la muerte de lo que inicialmente fue un bofedal pre-existente por la acumulación de sedimentos (relaves) sobre la capa vegetal.

El Drenaje Ácido de Roca (DAR) que producen los residuos sólidos mineros como desmonte, relaves y otro material fino fue arrastrado por el río Negro hasta la llanura del antiguo bofedal, que también genera DAR y luego de una filtración en la antigua biomasa muerta se mitiga por la presencia de depósitos de caliza en la base de la cuenca (Minco, 2007).

Los suelos del área de la llanura del Río Negro se encuentran contaminados por metales pesados con excesos sobre los Límites Permisibles Internacionales, ya que no existe una norma comparativa a nivel nacional. Los metales pesados en exceso son Manganeso, níquel, plomo, plata, cadmio, cobalto, arsénico y zinc (Minco, 2007).

Las muestras de sedimentos se encuentran con contenidos más altos que los límites permisibles de la norma alemana (Kloke, 1980), especialmente para metales pesados como el zinc, plomo, cadmio, arsénico, manganeso, níquel, cobre y cobalto. Los metales pesados mayoritarios existentes son el plomo el arsénico, el plomo y el zinc, que fueron detectados por análisis químico.

6.2 Evaluación e interpretación de resultados en Suelo

Las muestras de suelos fueron obtenidas conjuntamente seis (06) de las muestras de plantas (EV 1 a EV 6).

Las primeras cinco muestras (SV-1 a SV-5) fueron tomadas sobre el mismo área de relave, mientras que la muestra SV 6, fue tomada como muestra testigo a

aproximadamente 2 Km del área afectada por el relave, considerada zona libre de contaminación por actividades antropogénicas.

Tabla 9. Resultados de Laboratorio – Presencia de Pb y As en sedimentos

| Código A.Rojas | Código Laboratorio | Parámetro | Arsénico As | Plomo Pb |
|-------------------|-----------------------|-----------------|----------------|-------------|
| | | Fecha de ensayo | 2013.10.17 | 2013.10.22 |
| | | Norma | EPA 7062 | EPA7420 |
| | | Unidades | mg/Kg | mg/Kg |
| | | L.C. | 0.003 | 0.1 |
| SV-1 | 7133 | | < 0.003 | 442.7 |
| SV-2 | 7134 | | < 0.003 | 6.2 |
| SV-3 | 7135 | | < 0.003 | 1446.9 |
| SV-4 | 7136 | | < 0.003 | 47.7 |
| SV-5 | 7137 | | < 0.003 | 75.9 |
| SV-6* | 7138 | | < 0.003 | <0.1 |

(*) Testigo

Las concentraciones del elemento Arsénico (As) se hallan, en todos los casos, por debajo del límite de detección, lo que indica una nula presencia de este elemento en contradicción con los resultados de estudios anteriores de hasta 1080 mg/Kg., en el área de estudio.

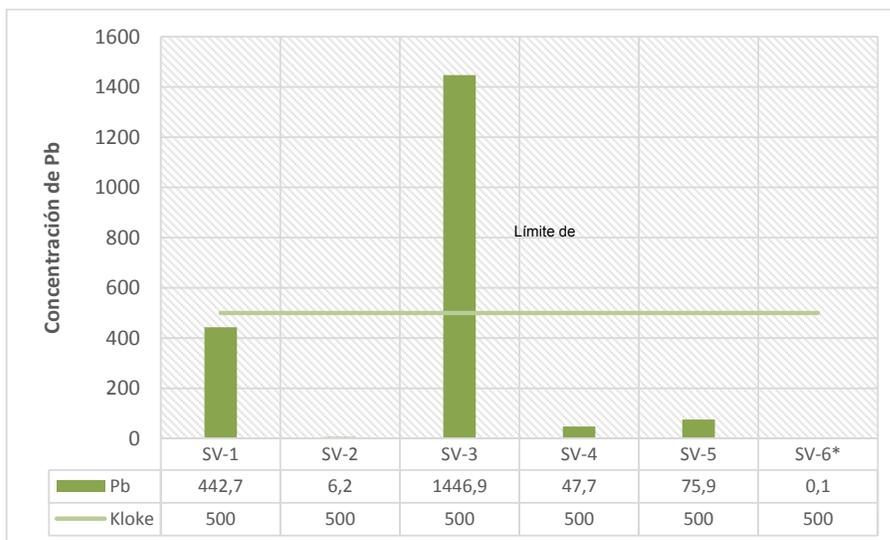


Ilustración 9. Plomo en sedimentos

La concentración del elemento plomo (Pb) sólo ha sido detectado con valores elevados en los puntos de toma de muestra SV-1 y SV-3. Este comportamiento tan irregular de las concentraciones se ha mostrado similar en la toma de muestras realizada en 2007 por Minco, con concentraciones que varían de 25.5 a 893 ppm.

6.3 Análisis Comparativo con normas internacionales

Los resultados de laboratorio fueron comparados con distintas normas internacionales debido a que Bolivia no cuenta con reglamentación específica para la calidad de sus suelos. Todos los valores usados para la comparación fueron determinados para un suelo de tipo agrícola.

Tabla 10. Tabla Comparativa de concentración de As y Pb – Suelos (mg/Kg)

| | SV-1 | SV-2 | SV-3 | SV-4 | SV-5 | SV-6* | Klope | Perú | Holanda | Ecuador |
|----|--------------|--------|---------------|--------|-------------|--------|-------|------|---------|---------|
| As | <0.003 | <0.003 | <0.003 | <0.003 | <0.003 | <0.003 | 40 | 50 | 29 | 12 |
| Pb | 442.7 | 6.2 | 1446.9 | 47.7 | 75.9 | 0.1 | 500 | 70 | 85 | 100 |

(*) Testigo

6.4 Evaluación e Interpretación de resultados en plantas

Los resultados luego del análisis de laboratorio se muestran a continuación:

Tabla 11. Resultados de Laboratorio – Presencia de Pb y As en plantas

| Código A.Rojas | Código Laboratorio | Parámetro | Arsénico As | Plomo Pb |
|-----------------------|---------------------------|------------------|--------------------|-----------------|
| | | Fecha de ensayo | 2013.10.17 | 2013.10.22 |
| | | Norma | EPA 7062 | EPA7420 |
| | | Unidades | mg/Kg | mg/Kg |
| | | L.C. | 0.003 | 0.1 |
| EV-1 | 7125 | | 0.186 | 67.2 |
| EV-2 | 7126 | | 0.118 | 105.9 |
| EV-3 | 7127 | | 0.124 | 31.7 |
| EV-4 | 7128 | | 0.139 | 94.4 |
| EV-5 | 7129 | | 0.114 | 118.3 |
| EV-6* | 7130 | | 0.088 | 89.5 |
| EV-7 | 7131 | | 0.183 | 2844.3 |
| EV-8 | 7132 | | 0.154 | 96.9 |

(*) Testigo

Las plantas procedentes del área de estudio se han desarrollado en tres diferentes escenarios: (1) Sobre el mismo relave, (2) Sobre el mismo relave, en dunas de arena que se han generado en el transcurso del tiempo y (3) Sobre el mismo relave, a orillas del río Negro, sobre sedimentos nuevos depositados por la crecida eventual del curso.

En el caso de las plantas, los resultados de laboratorio reflejan lo siguiente:

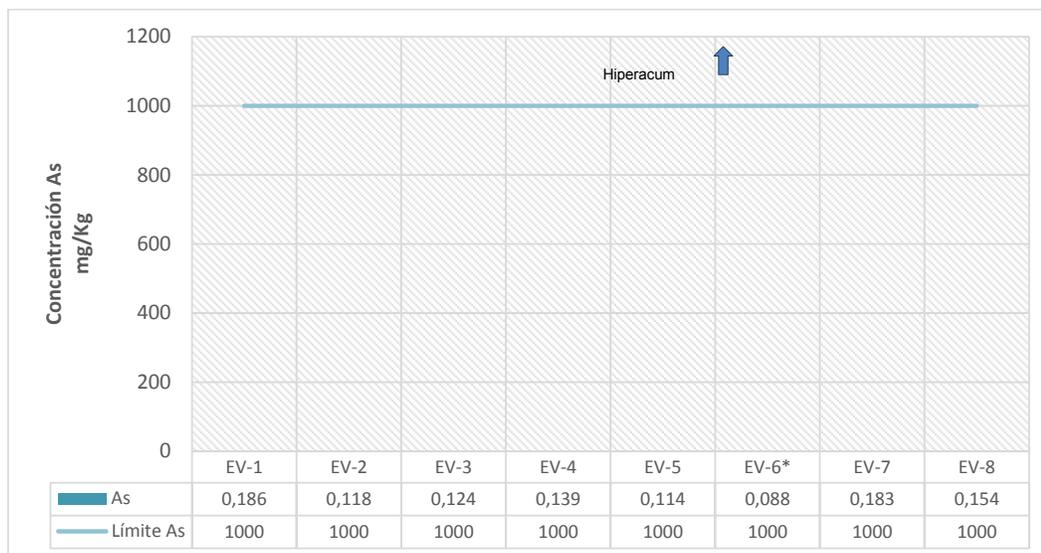


Ilustración 10. Arsénico en plantas

Para el elemento Arsénico (As), ninguna de las especies recolectadas muestra concentraciones que se hallen por encima de los valores considerados anormales y que indicarían una hiperacumulación (1000 mg/Kg MS) de este elemento en sus tejidos.

Estas bajas concentraciones tienen una directa correlación con la muy baja o nula presencia de este elemento en los análisis de suelo.

En función de los valores hallados, ninguna de las especies recolectadas podría ser considerada como hiperacumuladora o metalófito para arsénico, sin embargo la presencia en mayor porcentaje de esta especie de planta en la zona de los relaves denota la tolerancia y/o acumulación de elementos pesados. La determinación de cuál elemento es el acumulado por esta especie vegetal deberá hacerse en futuras investigaciones mediante pruebas de laboratorio multielementales.

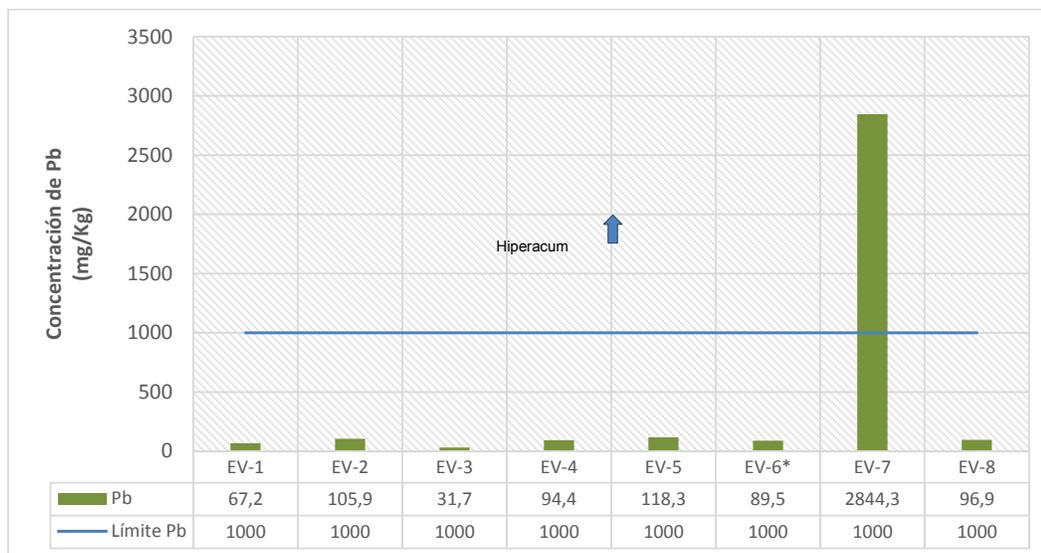


Ilustración 11. Plomo en plantas

Para el elemento Plomo (Pb), de entre las ocho (08) especie vegetales recolectadas en el sitio de estudio, sólo una de ellas, *Festuca orthophylla*, Paja brava, con una concentración de 2844.3 mg/Kg de plomo es la que cumple el requisito de poseer un contenido superior a 1000 mg/Kg de plomo (MS), aspecto que permitiría catalogarla como especie Hiperacumuladora o Metalófito para plomo (Baker y Brooks, 1989 y Kabata-Pendias y Pendias, 2000). En el caso de las especies *Lampaya medicinalis*, Lampaya y de *Parastrephia cuadrangularis*, Phulica; los resultados no muestran valores de concentración de plomo que se consideren de interés para el propósito de la investigación.

La simple presencia de estas especies en el sitio de los relaves ya muestra un nivel de tolerancia para los metales pesados, sin embargo el análisis de laboratorio efectuado, limitado a sólo dos elementos, no permite su identificación.

7 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestro estudio sugerimos a la especie *Festuca orthophylla*, Paja brava como hiperacumuladora de Pb, ya que cumple con el requisito sugerido por Baker *et al.*, (2008) para clasificarla dentro de esta categoría:

- Capacidad de acumular más de 1000 mg/Kg de Pb

Asimismo, en base a los mismos resultados permiten sugerir a la especie *Festuca orthophylla*, Paja brava para estudios de fitoextracción y/o fitoestabilización del metal pesado plomo (Pb) para la revegetación del área de los relaves del río Negro, ya que cumple con las condiciones mínimas sugeridas por Baker y Brooks, 1989 y Kabata – Pendias y Pendias, 2000 para clasificarla dentro de esta categoría:

- Alta tolerancia a los metales pesados. Esta planta ha crecido en zonas con exceso de muchos metales y ha sido capaz de acumular 2844.3 mg/Kg de Pb.
- Especie perenne y por tanto, con un largo ciclo de vida y capacidad para autopropagarse.

Los resultados obtenidos en el presente estudio son de importancia debido a que el elemento plomo (Pb) es considerado como el mayor problema ambiental en el mundo moderno (Body *et al.*, 1991) y, por tanto, objetivo para la fitorremediación (Brooks, 1998) por su extremada inmovilidad, limitada traslocación (Reeves, 2006) y poca disponibilidad para las plantas (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Tabla 12 Características clave en plantas aptas para fitoextracción y fitoestabilización (Mendez y Maier, 2008)

| | Fitoextracción | Fitoestabilización |
|---|------------------------------------|-----------------------------|
| Características generales de las plantas | Rápido crecimiento y mucha biomasa | Perennes y raíces profundas |
| Concentración de metales en planta (mg/Kg) | | |
| As | ≥ 1000 | < 1 |
| Cd | ≥ 100 | <1 |
| Cu | ≥ 1000 – 5000 | < 40 |
| Mn | ≥ 1000 – 10000 | ≤ 2000 |
| Pb | ≥ 1000 – 10000 | ≤ 100 |
| Zn | ≥ 10000 | ≤ 500 |

7.1 *Festuca orthophylla* como una opción de Fitorremediación

La especie *Festuca orthophylla*, Paja brava tiene la siguiente clasificación botánica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Pooideae

Tribu: Poeae

Género: Festuca

Especie: *F. orthophylla*

***Festuca orthophylla*, paja brava, iru-ichu**, es una especie perenne, nativa del oeste de Sudamérica: Bolivia, Argentina, Perú, Ecuador y Chile. Fue bautizada así por sus espiguillas florales rectas, que aparecen a finales de la primavera y a principios del verano. La altura promedio de esta planta está entre los 20 y los 50 cm., forma macollos y hojas delgadas de coloración parda a plumizas, sus bordes son ásperos, son hojas erectas, aciculadas que alcanzan de 5 a 13 cm de largo y 1 a 2 mm de ancho. La inflorescencia es una panícula lineal; de 4,5–6 cm de largo y 6–8 mm de ancho.

Esta especie es utilizada como forraje por las especies de camélidos nativos de la zona, alpaca (*Lama pacos*, Linn), llama (*Lama glama*, Linn) y la vicuña (*Vicugna vicugna*).

En el sector minero se ha evidenciado el uso de esta especie para la rehabilitación y cobertura de depósitos de desmontes, el crecimiento de estas plantas en este tipo de terrenos ratifican su carácter de tolerancia e hiperacumulación de metales pesados.



Fotografía 4. *Festuca orthophylla* utilizada para remediar un antiguo depósito de desmontes Tablachaca, Activos Mineros (Perú, 2013)

No se ha encontrado esta especie (*Festuca orthophylla*) en ninguna de las listas de plantas hiperacumuladoras que ya fueron determinadas por anteriores investigaciones. Se deberán hacer pruebas adicionales para determinar si tiene la capacidad de acumular otros metales y los órganos en los cuales se da esta acumulación.

7.1.1 Criterios de Riesgo

El uso de una especie vegetal cualquiera para trabajos de fitorremediación conlleva riesgos para el ambiente. Específicamente riesgo de bioacumulación. Debido a que estas plantas hiperacumuladoras son capaces de acumular cantidades significativas de metales pesados en su parte aérea que podría ser de alguna manera aprovechada como parte de la dieta alimenticia de alguno de los animales silvestres de la zona (Camélidos andinos en general), por lo que la aplicación de esta técnica con *Festuca orthophylla* debe considerar un control evitando su consumo y que una vez que la misma haya alcanzado a completar su ciclo vegetativo sea cortada y tratada como un desecho peligroso (Cunningham y Ow, 1996).

La culminación del tratamiento de fitoextracción consiste en la incineración de las plantas extraídas y/o cosechadas, con ello se abre una relativamente nueva alternativa de aprovechamiento del recurso, denominado “Fitominería”, que tiene por objeto la extracción del recurso posterior a una incineración.

Procediendo a calcular el posible aprovechamiento de esta alternativa la opción indica lo siguiente:

$$\text{Concentración Pb en planta (mg)} = \text{Concentración Pb en planta (g)}$$

$$2844.3 \text{ mg/Kg} = 2.8443 \text{ g/Kg}$$

Asumiendo que el peso de cada una de las plantas cosechadas tenga el peso de 1 Kg = 1000 g., entonces, para obtener un Kilogramo de plomo corresponde lo siguiente:

$$1 \text{ Kg de Pb} / \text{Concentración de Pb en planta} = \text{Cantidad de plantas}$$

$$1000 \text{ g} / 2.8443 \text{ g} = 351 \text{ plantas}$$

En tal sentido deberíamos de cosechar 351 plantas con una concentración promedio de 2.8 g/Kg de plomo en sus tejidos e incinerarlas para obtener 1 Kg de plomo.

7.2 Aplicación de la metodología de Fitorremediación

Con el objetivo de ejemplificar una posible aplicación de la fitorremediación para recuperar la contaminación con plomo del área de los relaves del río Negro se han realizado cálculos que muestran su factibilidad como un proceso a largo plazo.

Los cálculos a continuación son sólo referenciales y están basados en una superficie de terreno de 0.30 m de lado por 0.30 m de profundidad (0.027 m³) que equivale al volumen de terreno donde el 90% de las raíces de *Festuca orthophylla* se desarrollan y del cual absorbe tanto nutrientes como el metal pesado.

Asimismo, debido a las características del relave, con una textura predominantemente arenosa, nos permiten definir por bibliografía una densidad relativa “ρ” de 1.5 g/cm³ (USDA, 1993).

Finalmente, consideraremos en base a los resultados recibidos de laboratorio las máximas concentraciones de plomo en suelo (1446 mg/kg) y en la planta objeto de estudio (2844.3 mg/Kg) para hacer una simulación de la capacidad de la especie vegetal para remediar el sitio contaminado.

CALCULOS

$$\text{Volumen de } S^{\circ} \times \text{Densidad del } S^{\circ} (\text{arena}) = \text{Peso del Volumen de } S^{\circ}$$

$$0.027\text{m}^3 \times 1.500 \text{ Kg}/\text{m}^3 = \mathbf{40.5 \text{ kg}}$$

$$\text{Concentración de Pb en } S^{\circ}(\text{Lab}) \times \text{Peso del } S^{\circ} = \text{Concentración de Pb en } S^{\circ}(\text{Prueba})$$

$$1446.9 \text{ mg}/\text{Kg} \times 40.5 \text{ Kg} = 58599.45 \text{ mg} = \mathbf{58.6 \text{ g Pb}/0.027 \text{ m}^3 \text{ de suelo}}$$

En función de los cálculos previos, se puede calcular el tiempo necesario para que las plantas puedan llevar el suelo a valores tolerantes de concentración de Pb. (500 mg/kg. Kloke). El resultado se medirá en el número de cultivos necesarios para bajar la concentración.

$$\frac{\text{Concentración máxima hallada}}{\text{En Suelo}} - \frac{\text{Concentración tolerable}}{\text{En Suelo}} = \frac{\text{Concentración a retirar}}{\text{Por las plantas}}$$

$$1446.9 \text{ mg}/\text{Kg} - 500 \text{ mg}/\text{Kg} = \mathbf{946.9 \text{ mg}/\text{Kg}}$$

$$\text{Concentración de Pb en } S^{\circ}(\text{Lab}) \times \text{Peso del } S^{\circ} = \text{Concentración de Pb en } S^{\circ}(\text{Prueba})$$

$$946.9 \text{ mg}/\text{Kg} \times 40.5 \text{ Kg} = 38349.45 \text{ mg} = \mathbf{38.3 \text{ g Pb}/0.027 \text{ m}^3 \text{ de suelo}}$$

$$\frac{\text{Conc. de Pb en } S^{\circ}(\text{Prueba})}{\text{Conc. de Pb } \frac{\text{absorbida}}{\text{planta}}} = \text{Cantidad de Cultivos necesarios}$$

$$38349.45 \text{ mg}/0.027 \text{ m}^3 \text{ suelo} \Big/ 2844.3 \text{ mg}/\text{Kg} = \mathbf{13.5 \text{ Cultivos}}$$

Considerando que el Ciclo vegetativo de las especies gramíneas perennes (Fam. *Poaceae*) es aproximadamente de 300 días, equivalente a 0.83 años. El tiempo necesario para poder retirar la cantidad de plomo del suelo hasta niveles tolerables es:

$$\text{Cantidad de plantas} \times 0.83 \text{ años} = \text{Años de tratamiento}$$

$$13.5 \text{ plantas} \times 0.83 \text{ años} = \mathbf{11.2 \text{ años de tratamiento}}$$

El resultado hallado tiene una completa correlación con estudios previos realizados por diferentes autores (Ghosh 2005) y nos da una clara idea de que el proceso de remediación es a largo plazo, pero en todo sentido factible.

agua. Sin embargo, de acuerdo a Baker *et al.*, en 2000; Schat *et al.*, 2000 y Macnair, 2003, quedan aún varias cuestiones que resolver en relación a la evolución de las características de estas plantas.

Un aspecto a analizar es que estas especies cuentan con mecanismos de absorción y de tolerancia que les permiten soportar elevados niveles de metales acumulados en sus tejidos que serían extremadamente tóxicos para otros organismos.

Por otra parte, la hiperacumulación también puede ser vista como un proceso activo de protección de la planta contra las plagas (patógenos) o animales herbívoros, lo que le da cierta ventaja de adaptación con relación a otras especies (Behmer *et al.*, 2005; Poschenrieder *et al.*, 206; Salt, 2006).

Finalmente, se debe considerar que la fitoextracción que se aplica al suelo contaminado no elimina el metal del medio, sino que lo transfiere a un organismo, debiendo definirse con claridad cuál será la técnica a aplicar a las plantas una vez que el metal se ha acumulado en ellas. Si bien la planta es tolerante a este metal, el animal que se alimenta de ella podría ser intoxicado.

En tal sentido es muy importante determinar en qué situaciones será adecuado hacer uso de la técnica y si las plantas hiperacumuladoras son una adecuada herramienta de fitorremediación.

La absorción de metales pesados por las plantas es generalmente el primer paso para la entrada de éstos en la cadena alimentaria. La absorción y posterior acumulación dependen en primera instancia del movimiento (movilidad de las especies) de los metales desde la solución en el suelo a la raíz de la planta.

En plantas, el concepto de bioacumulación se refiere a la agregación de contaminantes; algunos de ellos son más susceptibles a ser fitodisponibles que otros (Kabata-Pendias, 2000).

Tabla 13. Grupos de metales y metaloides según biodisponibilidad y riesgo para la cadena alimentaria (Chaney 1980)

| Grupo | Metal | Adsorción en el suelo | Fitotoxicidad | Riesgo para la cadena alimentaria |
|-------|------------------------|---|---------------|--|
| 1 | Ag, Cr, Sn, Ti, Y y Zr | Baja solubilidad y fuerte retención en el suelo | Baja | Bajo riesgo, porque ellos son tomados en menor grado por las plantas |

| | | | | |
|---|------------------------|---|--|--|
| 2 | As, Hg y Pb | Adsorbidos fuertemente por los coloides del suelo | Las plantas pueden absorberlos pero no traslocarlos a los tallos o generalmente no son fitotóxicos excepto a concentraciones muy altas | <u>Causa mínimos riesgos para la cadena alimentaria humana</u> |
| 3 | B, Cu, Mn, Mo, Ni y Zn | Menos fuertemente adsorbido al suelo comparado con los grupos 1 y 2 | Fácilmente tomados por las plantas, son fitotóxicos a concentraciones que causan bajo riesgo a la salud humana | Conceptualmente la barrera “suelo – planta” protege a la cadena alimentaria de estos elementos |
| 4 | Cd, Co y Se | Menor grado adsorción al suelo en relación a los otros metales | Causan riesgo en la salud humana o animal a concentraciones en el tejido de la planta que generalmente no son fitotóxicas | Existe bioacumulación a través de la cadena alimentaria suelo – planta – animal |

En conclusión se podría indicar que las plantas que hacen acumulación de arsénico y plomo en sus tejidos se limitan a almacenarlos con preponderancia en las raíces, evitando su traslocación a las partes aéreas, restringiendo con ello la posibilidad de que sea bioacumulado por una especie de animal superior.

7.4 Perspectivas de Fitorremediación

7.4.1 Hiperacumuladoras en Latinoamérica

Hay una falta de conocimiento sobre las plantas hiperacumuladoras en Latinoamérica, sin embargo, hay un gran potencial para este grupo particular de plantas en la región por la alta diversidad y la presencia de diversos tipos de yacimientos minerales. Se deben hacer grandes esfuerzos para localizar a las plantas hiperacumuladoras en su propio y natural hábitat para poder brindarles una protección adecuada.

La minería metálica representa una seria amenaza para la diversidad de plantas en la región, incluyendo su conocimiento e identificación como hiperacumuladoras, y esta

situación continuará si no se realizan esfuerzos para proteger este grupo de plantas. La extinción de plantas nativas puede ser causada por cualquier tipo de actividad, pero en el caso de las hiperacumuladoras es muy probable que sea únicamente provocada por la actividad minera, debido a que estas plantas crecen cerca o encima de los depósitos.

La eliminación de este particular grupo de plantas resultará en una pérdida de un recurso invaluable que puede ser usado por la actividad minera y metalúrgica como una buena práctica en sus planes de cierre y rehabilitación, constituyéndose como un recurso biológico con gran potencial en la fitorremediación de suelos contaminados con desechos ricos en contenido de metales pesados.

7.4.2 Vías de Investigación

Durante la última década han aparecido nuevos trabajos que estudian la evolución y optimización de los procesos de fitorremediación de suelos contaminados en metales pesados (Ow, 1996; Raskin, 1996; Salt *et al.*, 1998; Pletsch *et al.*, 1999), centrándose principalmente en los siguientes aspectos (Cunningham & Ow, 1996, Raskin, 1996, InterCOST, 2000):

- Identificar, seleccionar y optimizar plantas candidatas por selección genética y otras actuaciones.
- Optimizar los usos agronómicos y silvícolas de fertilizantes, irrigación, control de plagas y otras prácticas sobre plantas hiperacumuladoras.
- Manipulación rizosférica mediante la selección de raíces, tratamiento con enmiendas, e inoculación con bacterias y hongos seleccionados.
- Ampliar el conocimiento sobre el uso metabólico e ingeniería genética para crear plantas transgénicas económicamente rentables.

BIBLIOGRAFÍA

- Adriano, D.C. *Trace elements in terrestrial environments: biochemistry, bioavailability and risks of metals*. Springer-Verlag, Nueva York, USA, 2001.
- Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Sidoli, C.M.D. and Reeves, R.D. *The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants*. Resour. Conserv. Recycl, 1994.
- Baker, A.J.M. *Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals*. Journal Plant Nutrition, 1981.
- Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D. and Smith, J.A.C. *Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA. 2000
- Barceló, J. Poschenrieder, C, *Phytoremediation: principles and perspectives*. Contribution to Science, 1994.
- Barretto L & I Casale. *Caracterización de las plantas asociadas a los suelos serpentínicos de Loma de Hierro*. Octavo Congreso Latinoamericano de Botánica, Cartagena de Indias, Colombia, Libro de resúmenes, Venezuela, 2002
- Boyd, R.S. y Martens, S.N. *Nickel Hyperaccumulated by *Thlaspi montarum* Var. *montarum* is Acutely Toxic to an insect herbivore*, Oikos, 1994.
- Brooks, R. *Serpentine and its vegetation. A multidisciplinary approach*. Dioscorides Press, Croom Helm, London, and Sidney, 1987.
- Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D., y Jaffre, T. *Detection of Nickeliferous Rocks by Analysis of Herbarium Specimens of Indicator Plants*, J. Geochem Exploration, 1977.
- Brooks, R. R., Naidu, S. M., Malaisse F and Lee, J. *The elemental content of Metallophytes from the copper/cobalt deposits of Central Africa / Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique / Bulletin van de Koninklijke Belgische Botanische Vereniging*, 1986
- Brown, S.L., Angle, J.S., Chaney, R.L. y Baker, A.J.M. *Zinc and cadmium uptake by *Thlaspi caerulescens* and *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils in relation to total soil metals and soil pH.*, Environ.Sci. Technol. 1995.

- Burt, R., Fillmore, M., Wilson, M.A., Gross, E.R., Langridge, R.W. y Lammers, D.A. *Soil properties of selected pedons on ultramafic rocks in Klamath Mountains, Oregon*, Comm. Soil Sci. Plant Anal. Oregon – USA, 2001
- Castrillo G, Sánchez-Bermejo E, de Lorenzo L, Crevillén P, Fraile-Escanciano A, Tc M, Mouriz A, Catarecha P, Sobrino-Plata J, Olsson S, Leo Del Puerto Y, Mateos I, Rojo E., Hernández LE, Jarillo JA, Piñeiro M, Paz-Ares J., Leyva A., *Transcription factor restricts arsenate uptake and transposon activation in Arabidopsis*, *plant cell*, 2013
- Chaney, R.L., Hornick, S.B. y Sikora, L.J. *Review and preliminary studies of industrial land treatment practices*. Proc. Seventh Annual Research Symposium on Land Disposal of Municipal Solid and Hazardous Waste and Resource Recovery, EPA, Nueva York – USA, 1981a.
- Chaney, R.L., Li, Y.-M., Brown, S.L., Homer, F.A., Malik, M., Angle, J.S., Baker, A.J.M., Reeves, R.D. y Chin, M. *Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress*. *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA, 2000.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S. y Baker, A.J.M. *Phytoremediation of soil metals*. *Current Opinion in Biotechnology*. 1997
- Clemens S, Palmgren MG, Kraemer U. *A long way ahead: Understanding and engineering plant metal accumulation*, Trends in Plant Science, USA, 2002.
- Delgadillo Lopez, Angélica *et al.*, *Fitorremediación: Una alternativa para eliminar la contaminación*. Revista: Tropical and Subtropical Agroecosystems, México, 2011
- Fernández-Turiel JL, JN Rossi, PA Peñaloza, ME Medina, J Saavedra, F Durán, JP López, X Querol, A López-Soler & AJ Toselli. *Implicaciones ambientales del estudio biogeoquímico de la Sierra de Famatina, La Rioja, Argentina*. Actas del Séptimo Congreso Geológico Chileno, Concepción, Chile. 1994
- Ghaderian, S.M., Mohtadi, A., Rahiminejad, M.R., Baker, A.J.M. *Nickel and other metal uptake and accumulation by species of Alyssum (Brassicaceae) from the ultramafics*. Environ. Poll. 2007.

- Ginocchio, R. *Copper tolerance testing on plant species growing near a copper smelter in central Chile*. Proceedings of the Fifth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Vienna, Austria. 1999
- Ghosh, M., Singh, S. P. *A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by-products*. Applied Ecology and Environmental Research. 2005.
- Hogan GD, GM Courtin & WE Rauser. *Copper tolerance in clones of Agrostis gigantean from a mine waste site*. Canadian Journal of Botany. 1977
- Huang,J.W., Chen,J. and Cunningham,S.D. *Phytoextraction of lead from contaminated soils*. E.L.Kruger *et al.* (eds.) Phytoremediation of Soils and Water Contaminants. American Chemical Society, Washington, 1997.
- Huang,J.W. and Cunningham,S.D. *Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation*. New Phytol. 1996.
- Lambers H, FS III Chapin & TI Pons. *Plant physiological ecology*. Springer-Verlag, New York, New York, USA. 1998
- Malaisse F, RR Brooks & AJM Baker. *Diversity of vegetation communities in relation to soil heavy-metal content at the Shinkolobwe copper/cobalt/uranium mineralization*, Belgian Journal of Botany. Upper Shaba, Zaire.. 1994
- McGrath,S.P., Sidoli,C.M.D., Baker,A.J.M. and Reeves,R.D. *The potential for the use of metal-accumulating plants for the in situ decontamination of metal-polluted soils*. In: H.J.P.Eijsackers and T.Hamers (eds), Integrated Soil and Sediment Research: a Basis for Proper Protection. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1993
- Ortiz C, J Li Kao & S Orellana. *Acumulación y tolerancia a Cu⁺⁺ en una gramínea silvestre: potencial de uso en fitorremediación*. Biological Research. 2002.
- Peguero B & T Clase, *Flora y vegetación serpentinícola de la franja costera Maimón-Guzmancito, Puerto Plata, República Dominicana*. Octavo Congreso Latinoamericano de Botánica, Cartagena de Indias, Colombia, Libro de Resúmenes; 2002.
- Reeves RD. *Hyperaccumulation of nickel by serpentine plants*. In: Baker AJM, J Proctor & RD Reeves (eds) *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*. Intercept Ltd., Andover, United Kingdom. 1992

- Reeves RD & AJM Baker. *Metal-accumulating plants*. In: Raskin I & BD Ensley (eds) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley and Sons Inc., New York, New York, USA. 2000.
- Reeves,R.D. and Brooks,R.R.(1983) European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. *J. Geochem. Explor.* 18, 275-283.
- Sierra Villagrana, Ruben. *Fitorremediación de un Suelo Contaminado con plomo por actividad industrial*, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Mexico, 2006.
- Stanley Buol, W.; Southard, Randal J., Graham, Robert C., and McDaniel, Paul A. *Soil Genesis and Classification*, 5th Edition. Ames, Iowa: Iowa State Press, A Blackwell Pub. Co, 2003.
- Tordoff GM, AJM Baker & AJ Willis. *Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes*. Chemosphere.2000
- Viladevall M, RS Santiviáñez, J Ponce, H Alarcón, E Valenzuela, J Saavedra, E Pellitero, A Murciego, J Babkine & Y Dusausoy *El análisis de las tholas como método de exploración de menas de antimonio-oro en el altiplano Boliviano*. Actas del Séptimo Congreso Geológico Chileno, Volumen II, Concepción, Chile. 1994
- Volke Sepúlveda Tania, Velasco Trejo Juan A. y de la Rosa Pérez David A. *Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestreo y Alternativas para su remediación*, Instituto Nacional de Ecología (INE-Semarnat), México, D.F., 2005.
- Whiting SN, RD Reeves & AJM Baker. *Conserving biodiversity: mining, metallophytes and land reclamation: conservation of biodiversity*. Mining Environmental Management. 2002

8 ANEXOS

Anexo 1. Plantas indicadoras de metales en Latinoamérica descubiertas por prospecciones geobotánicas

| País | Metal indicador | Especies | Referencia |
|-----------|----------------------------------|---|---|
| Argentina | Zn Cu, Zn, Ni, Sr, Li, Cd, Bi | <i>Prosopis alba</i> <i>Prosopis nigra</i> <i>Prosopis alba</i> <i>Larrea divaricata</i> | Fernandez – Turiel <i>et al.</i> , 1994 |
| Bolivia | Au, As, Sb | <i>Baccharis incarum</i> <i>Fabiana densa</i> | Viladevall <i>et al.</i> , 1994 |

**Anexo 2. Hiperacumuladoras descritas en América Latina por la literatura (MT)
Tolerante a los metales (H) Hiperacumuladora**

| País | Metal | Tipo de Planta | Especie | Referencia |
|--------|-------|----------------|--|-----------------------------|
| Brasil | Ni | H | <i>Adiantum</i> sp | Brooks et al. (1990, 1992b) |
| | | H | <i>Chromolaena</i> sp. | |
| | | H | <i>Cnidolcolus</i> sp. | |
| | | H | <i>Esterhazyia</i> sp. | |
| | | H | <i>Heliotropium</i> sp. | |
| | | H | <i>Justicia lanstykii</i> sp. | |
| | | H | <i>Laphostachys villosa</i> sp. | |
| | | H | <i>Mitracarpus</i> sp. | |
| | | H | <i>Ruellia geminiflora</i> sp. | |
| | | H | <i>Turnera subnuda</i> sp. | |
| | | H | <i>Vellozia</i> sp | |
| Chile | Cu | MT | <i>Mimulus luteus</i> var. <i>variegatus</i> | Ginocchio et al. (2002) |
| | | MT | <i>Cenchrus echinatus</i> | |
| | | MT | <i>Erygeron berterianum</i> | Ruelle (1995) |
| | | MT | <i>Mullinum spinosum</i> | |
| | | MT | <i>Nolana divaricata</i> | |
| | | MT | <i>Dactylium</i> sp. | |
| Cuba | Ni | H | <i>Ariadne</i> (2 spp) | Reeves et al. (1996, 1999) |
| | | H | <i>Bonania</i> (3 spp) | |
| | | H | <i>Buxus</i> (17 spp) | |
| | | H | <i>Chionantus domingensis</i> | |
| | | H | <i>Euphorbia</i> (3 spp) | |
| | | H | <i>Garcinia</i> (4 spp) | |
| | | H | <i>Gochnatia recurva</i> | |
| | | H | <i>Gochnatia crassifolia</i> | |
| | | H | <i>Gymnanthes recurva</i> | |
| | | H | <i>Koanophyllon grandiceps</i> | |
| | | H | <i>Koanophyllon prinoides</i> | |
| | | H | <i>Leucocroton</i> (28 spp) | |
| | | H | <i>Mosiera</i> (4 spp) | |
| | | H | <i>Ouratea</i> (2 spp) | |
| | | H | <i>Pentacalia</i> (10 spp) | |
| | | H | <i>Phidiasia lindavii</i> | |

| | | | | |
|----------------------|------------------------|--|---|---|
| | | H H H H H H H H H H | <i>Phyllomelia coronata</i> <i>Psidium</i> (2 spp) <i>Psychotria</i> (5 spp) <i>Rondeletia</i> (2 spp) <i>Sapium erythrosperum</i> <i>Savia</i> (3 spp) <i>Senecio</i> (6 spp) <i>Shafera platyphilla</i> <i>Tetralix</i> (5 spp) <i>Phyllanthus williamioides</i> | |
| Ecuador | Zn Pb As | MT MT MT MT? MT? MT? MT? | <i>Baccharis amdatensis</i> <i>Rumex crispus</i> <i>Pennisetum clandestinum</i> <i>Chenopodium ambrosioides</i> <i>Pennisetum clandestinum</i> <i>Holcus lanatus</i> <i>Pennisetum clandestinum</i> | Bech et al. (2001b)** |
| Perú | As Cu | H H H MT? | <i>Bidens cinapiifolia</i> <i>Paspalum racemosum</i> <i>Paspalum tuberosum</i> <i>Bidens cinapiifolia</i> | Bech et al. (1997) Bech et al. (2001a)* |
| República Dominicana | Ni | H? MT? | <i>Senecio plumbeus</i> 10 serpentinitic endemic species | Peguero & Clase (2002) |
| Venezuela | Se Ni | H H H H MT? MT? MT? | <i>Lecythis ollaria</i> <i>Waltheria americana</i> <i>Oyedeia</i> sp. <i>Croton</i> sp. <i>Lepidaploa remotiflora</i> <i>Borreria verticillata</i> <i>Wedelia calycina</i> | Aronow & Kerdel-Vegas (1965) Barreto & Casale (2002) |

*BECH J, Ch POSCHENRIEDER, J BARCELÓ & A LANSAC (2001a) Plants from mine spoils in the South American area as potential source of germplasm for phytoremediation technologies. Proceedings of the Phytoremediation Conference, ISEB, UFZ Centre for Environmental Research, Leipzig, Germany

**BECH J, Ch POSCHENRIEDER, J BARCELÓ & A LANSAC (2001b) Heavy metal and arsenic accumulation in selected plants species around a silver mine in Ecuador: 393. Proceedings of the Sixth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Guelph, Canada

Anexo 3. Análisis Químico de Laboratorio Spectrolab – Universidad Técnica de Oruro



spectrolab
Servicios Analíticos - Laboratorio Químico
Unidad Descentralizada - Universidad Técnica de Oruro



INFORME DE ENSAYO

Nº.: 31404

| | | | | | |
|------------------------------|------------------------------|--|--------------------------|---------------|--|
| <i>NOMBRE DEL CLIENTE</i> | Sr. Alex Rojas UASB-UTO | | | | |
| <i>DIRECCIÓN DEL CLIENTE</i> | Achumani- Urb. Sierra Blanca | | | | |
| <i>PROCEDENCIA</i> | Pulacayo** | | | | |
| <i>CARACTERISTICAS</i> | Plantas | | | | |
| <i>RESPONSABLE MUESTREO</i> | Alex Rojas** | | <i>FECHA DE MUESTREO</i> | 2013-10-01** | |
| <i>FECHA RECEPCION</i> | 2013-10-08 | | <i>FECHA DE ENSAYO</i> | Según Detalle | |
| <i>PAGINA</i> | 1/2 | | <i>FECHA DE ENTREGA</i> | 2013-10-29 | |

RESULTADOS:

| Código Cliente | Código Laboratorio | Parámetro Fecha de Ensayo Norma Unidades L.C. | Arsénico | Plomo |
|----------------|--------------------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | | | As 2013-10-17 EPA 7062 mg/kg | Pb 2013-10-22 EPA 7420 mg/kg |
| EV-1 | 7125 | | 0,063 | 0,1 |
| EV-2 | 7126 | | 0,166 | 67,2 |
| EV-3 | 7127 | | 0,118 | 105,9 |
| EV-4 | 7128 | | 0,124 | 31,7 |
| EV-5 | 7129 | | 0,139 | 94,4 |
| EV-6 | 7130 | | 0,114 | 118,3 |
| EV-7 | 7131 | | 0,086 | 69,5 |
| EV-8 | 7132 | | 0,183 | 2644,3 |
| | | | 0,154 | 96,9 |

REFERENCIAS:
** Responsabilidad del Cliente
LD/ ppm = Límite de determinación en partes por millón .


T.S. Rosmary Torrez Y.
Supervisor


Ing. Jenny R. Espinoza Z.
Jefe de Laboratorio


Ing. Rosario Mena de Bascope
Resp. Control de Calidad

- Las firmas de los responsables de este trabajo confirman que los resultados finales reflejan verdaderamente los datos originales. Los resultados se refieren únicamente a las muestras ensayadas.
- El Informe de Ensayo es válido solo si presenta sello seco.
- En caso de que el laboratorio no efectuó el muestreo, no es responsable por la representatividad, ni la preservación de las muestras.
- Las muestras serán almacenadas por un lapso no mayor a 3 meses en un depósito del laboratorio (en relación a la estabilidad).
- Prohíbese la reproducción total o parcial de este documento sin previa autorización escrita del laboratorio.

Dirección: Ciudadela Universitaria
 Zona Sud: Final Av. Delene, Bloque Metalurgia
 Casilla 252

e-mail: spectrolab@colfax.net.bo gerencia@spectrolab.com.bo
 Página Web: <http://www.uto.edu.bo/servicios/spectrolab.html>
 Oruro - Bolivia

Tel/Fax.: (591-2) 526006
 Telf.: 5262963
 5264666



INFORME DE ENSAYO

Nº.: 31404

NOMBRE DEL CLIENTE Sr. Alex Rojas UASB-UTO
DIRECCIÓN DEL CLIENTE Achumani- Urb. Sierra Blanca
PROCEDENCIA Pulacayo**
CARACTERÍSTICAS Suelo
RESPONSABLE MUESTREO Alex Rojas**
FECHA RECEPCION 2013-10-08
PAGINA 2/2

FECHA DE MUESTREO 2013-10-01**
FECHA DE ENSAYO Según Detalle
FECHA DE ENTREGA 2013-10-29

RESULTADOS:

| Código Cliente | Código Laboratorio | Parámetro Fecha de Ensayo Norma Unidades L.C. | Arsénico | Piomo |
|----------------|--------------------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | | | As 2013-10-17 EPA 7062 mg/kg | Pb 2013-10-22 EPA 7420 mg/kg |
| SV-1 | 7133 | | <0,003 | 442,7 |
| SV-2 | 7134 | | <0,003 | 6,2 |
| SV-3 | 7135 | | <0,003 | 1446,9 |
| SV-4 | 7136 | | <0,003 | 47,7 |
| SV-5 | 7137 | | <0,003 | 75,9 |
| SV-6 | 7138 | | <0,003 | <0,1 |

REFERENCIAS:

** Responsabilidad del Cliente

LDI ppm = Límite de determinación en partes por millón.

Valor con símbolo "<" implica por debajo del límite de determinación.

T.S. Rosmary Torres Y.
Supervisor

Ing. Jerry A. Espinoza Z.
Jefe de Laboratorio

Ing. Rosario Mena de Bascopé
Resp. Control de Calidad

- Las firmas de los responsables de este trabajo confirman que los resultados finales reflejan verdaderamente los datos originales. Los resultados se refieren únicamente a las muestras analizadas.
- El Informe de Ensayo es válido solo si presenta sello seco.
- En caso de que el laboratorio no efectuó el muestreo, no es responsable para la representatividad, ni la preservación de las muestras.
- Las muestras serán almacenadas por un lapso no mayor a 3 meses en un depósito del laboratorio (en relación a la estabilidad).
- Prohíbida la reproducción total o parcial de este documento sin previa autorización escrita del laboratorio.

Dirección: Ciudadela Universitaria
Zona Sur: Pinal Av. Dehema, Bloque Metalurgia
Casilla 252

e-mail: spectrolab@uctecor.net.bo gerencia@spectrolab.com.bo
Página Web: <http://www.uto.edu.bo/servicios/spectrolab.html>
Oruro - Bolivia

Tel/Fax.: (591-2) 5260008
Telfs.: 5262903
5264666

Anexo 4. Clasificación de las Especies – Herbario Nacional de Bolivia

PLANTAS COLECTADAS POR: ALEX F. ROJAS PARRADO

Determinadas por: LPB – Stephen Beck & Rossy de Michel

Fecha: 28 de octubre de 2013

| | |
|---------------|---|
| 1 Compositae | <i>Parastrehia quadrangularis</i> (Meyen) Cabrera |
| 1 Poaceae | <i>Festuca orthophylla</i> Pilg. |
| 1 Verbenaceae | <i>Lampaya medicinalis</i> Phil. |

