

Paty S.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



HACE CONSTAR QUE EL CASO DE ESTUDIO TITULADO:

FABRICACIÓN Y USO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON SISTEMAS PRODUCTIVOS AGRÍCOLAS.

PRESENTADO POR:

ROBERTO ARTEAGA ALONSO

REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCION TERMINAL EN AGROPLASTICULTURA

HA SIDO DIRIGIDO POR:



DRA. HORTENSIA ORTEGA ORTIZ


CENTRO DE INFORMACIÓN

Saltillo, Coahuila, México

26 OCT 2007

Agosto 2007

RECIBIDO

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



A TRAVES DEL JURADO EXAMINADOR HACE CONSTAR QUE EL CASO DE ESTUDIO

FABRICACIÓN Y USO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON SISTEMAS PRODUCTIVOS AGRÍCOLAS.

QUE PRESENTA:

ROBERTO ARTEAGA ALONSO

HA SIDO ACEPTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCION TERMINAL EN AGROPLASTICULTURA

**PRESIDENTE
DR. LUIS FRANCISCO RAMOS DE VALLE**

**VOCAL
DR. R. HUGO LIRA SALDIVAR**

Las tecnologías del anterior medio siglo —los transistores, los semiconductores y la ingeniería genética— han buscado todas reducir el tamaño, los materiales y los costos conforme incrementan el poder.

Estamos a punto de dar un salto mucho mayor hacia la inmensidad de lo mínimo. Nuestra capacidad de manipular la materia transita ahora de los genes a los átomos.

Mientras la sociedad civil y los gobiernos se preocupan por la modificación genética, un impresionante conjunto de iniciativas industriales fija sus miras en una revolución científica que podría modificar la materia y transformar todos los aspectos del trabajo y la vida.

ETC Group. “La Inmensidad de lo Mínimo”.

DEDICATORIAS

A mi abuela Ana Maria (q.e.p.d.), ya que con su ejemplo de fortaleza nos dio a cada uno de nosotros un ejemplo de vida y valor para afrontar la penas que son bendiciones y pruebas que debemos superar día con día, este trabajo lo dedico en su memoria.

A mi madre que con su esfuerzo me ayudo a salir adelante, gracias por tu paciencia y tus consejos, tus desvelos y tus sonrisas, gracias por todo. A mi hermana que siempre ha estado hay para apoyarme, gracias.

A mi esposa Karina, tu eres la pieza más importante de mi vida sin ti no hubiera logrado nada de lo que tengo ni ser quien soy.

AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Hortensia Ortega, por la oportunidad de aceptarme en la realización de este trabajo y sus consejos a la hora de realizarlo.

Al Dr. R., Hugo Lira Saldivar por sus palabras de apoyo, consejos y observaciones en la realización de este documento.

Al Dr. Luis Francisco Ramos de Valle, por sus observaciones realizadas en la realización de este trabajo.

A todos mis maestros de agrolásticos, Dr. Juan, la maestra Chayo, maestra Juanita, Dr. Luís Ibarra, Ing. Boanerges. Al ing. Chago.

A mis compañeros de Generación, Crispín, Yuya, Rosy, Pancho, Herminia, Bianca y Teo. A Maria Elizabet, Nayeli Chavero, Agustín Reyes.

INDICE

Dedicatorias.....	<i>i</i>
Agradecimientos.....	<i>ii</i>
Índice.....	<i>iii</i>
I INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2. 1 Suelo.....	3
2. 1. 1 Contaminación de suelo	3
2. 1. 2 Efecto de los contaminantes	5
2. 2 Remediación de suelo	6
2. 2. 1 Biorremediación.....	7
2. 2. 1. 1 Tipos de biorremediación.....	8
2. 2. 1. 2 Tipos de fitorremediación	9
2. 3 Metales pesados	13
2. 3. 1 Acumulación de metales en el suelo	14
2. 3. 2 Proceso de acumulación de metales en las plantas	15
2. 3. 3 Toxicidad de los metales pesados	16
2. 3. 4 Mecanismo de resistencia a metales.....	17
2. 4 Fabricación biológica de metales	18
2. 4. 1 Mecanismos celulares para tolerancia y detoxificación de metales Pesados en plantas.....	19
2. 4. 1. 1 Pared celular y exudados de raíz.....	20
2. 4. 1. 2 Membrana plasmática	20
2. 4. 1. 3 Quelación	21
2. 4. 1. 3. 1 Metalotioneinas (MTs).....	22
2. 4. 1. 3. 2 Fitoquelatinas (PCs).....	22
2. 4. 1. 4 Compartimentalización vacuolar.....	23
2. 4. 1. 5 Biotransformación.....	23
2. 4. 1. 6 Mecanismo de reparación celular.....	24
2. 5 Plantas hipercumuladoras de metales	24
2. 6 Recuperación de metales acumulados en las plantas	26
2. 7 Nanotecnología	27
2. 7. 1 Nanopartículas metálicas.....	28
III. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO	30

IV. ÁREA DE OPORTUNIDADES	32
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
5. 1 Conclusiones	37
5. 2 Recomendaciones	37
VI. REFENRIAS BIBLIOGRAFICAS	39
Nomenclatura	51

I. INTRODUCCIÓN

El desarrollo económico que trajo consigo la revolución industrial iniciada hace más de doscientos años llevo a considerar a las industrias como signo de prosperidad. No fue sino hasta el descubrimiento de los daños ocasionados a los ecosistemas y a la alteración de la calidad del aire, el suelo y el agua, que se tomo conciencia de que el crecimiento económico puede, también, traer consigo efectos indeseables (Maqueda, 2003).

De éstos, el suelo es el medio más estático, donde los contaminantes pueden permanecer durante mucho tiempo. Esta permanencia a largo plazo es especialmente grave en el caso de los contaminantes inorgánicos, como los metales pesados, que no pueden ser degradados. Su persistencia, acumulación progresiva y/o su transferencia a otros sistemas supone una amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas (Becerril *et al.*, 2007). La contaminación constituye uno de los aspectos más importantes en la degradación de los suelos.

La consecuencia directa de esta contaminación, es una ausencia inicial de vegetación o la pérdida de su productividad, la disminución de la biodiversidad e indirectamente la contaminación del aire y las aguas superficiales y subterráneas, sin embargo, las poblaciones de una gran variedad de especies de plantas (metalofitas) son capaces de colonizar estos suelos degradados (Wong, 2003).

La recuperación de los suelos contaminados mediante métodos físicos o químicos “tradicionales” es generalmente rápida pero cara. Esta puede realizarse *in situ* (tratando el suelo en su lugar) o *ex situ* (tratamiento tras transporte del suelo). Las técnicas biológicas, o biorremediación, tienen como objetivo básico promover los procesos naturales y desarrollar técnicas para acelerar estos procesos en la recuperación de los suelos y sedimentos contaminados. Dentro de las técnicas biológicas o ecológicas, el uso de las plantas (fitorremediación) se considera potencialmente capaz de dar soluciones *in situ*, con un gasto financiero y tecnológico relativamente bajo. Además, el resultado, una cobertura “verde”, es más agradable estéticamente y, hoy en día, más aceptable desde el punto de vista ambiental (Bernal, 2007).

Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes (Cunningham *et al.*, 1995).

Las metalofitas son especies de plantas que han desarrollado los mecanismos fisiológicos para resistir, tolerar y sobrevivir en suelos con niveles altos de metales y, por ello, son endémicas de suelos con afloramientos naturales de minerales metálicos (Shaw, 1990). A pesar de que esas plantas se conocían ya antes de 1977, no llamaron la atención de la mayoría de los científicos hasta casi una década después. Desde entonces, ha emergido en torno a ese grupo de plantas un interés multidisciplinario, además de científico, también económico, y en disciplinas tan diversas como la fisiología vegetal, la arqueología, la fitorremediación, la fitominería, etc. (Vázquez, 2003).

El gran interés despertado por las plantas hiperacumuladoras, especialmente para detoxificar un ambiente contaminado (fitorremediación), obliga también a resolver otros problemas relacionados con a otras disciplinas; Brooks, (1998) hace hincapié en ello y destaca que, cuando se potencie la investigación conjunta de diversos campos como botánica, fisiología vegetal, agronomía, química y genética, probablemente se inicie un futuro brillante para la fitorremediación. Algunos de estos aspectos han sido recientemente comentados por especialistas europeos y americanos en la reunión impulsada por la Unión Europea, a través de su *Acción COST 837*, y que tuvo lugar en abril del 2001 en Madrid (España), con el título de "Phytoremediation of trace elements in contaminated soils and waters (with special emphasis on Zn, Cd, Pb and As)" (Vázquez, 2003).

Es muy importante recalcar que el objetivo último de un proceso fitorremediador de suelos contaminados no debe ser solamente eliminar el contaminante o, en su defecto, reducir su concentración hasta límites marcados en la legislación, sino sobre todo recuperar la salud del suelo, entendida ésta como la capacidad de este recurso para realizar sus funciones de forma sostenible desde una doble perspectiva antropocéntrica-ecocéntrica (Garbisu *et al.*, 2007).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Suelo

Puede definirse como la materia, no consolidada, compuesta por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprenden la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad (Medina *et al.*, 2001).

2.1.1. Contaminación del suelo

Un suelo contaminado es aquel donde se encuentran presentes uno o más materiales peligrosos y/o residuos de toda índole y que pueden construir un riesgo para el ambiente y la salud (Medina *et al.*, 2001).

La contaminación antrópica del suelo aparece cuando una sustancia está presente a concentración superior a sus niveles naturales, y tiene un impacto negativo en alguno o todos los constituyentes del mismo. Los niveles normales de metales pesados y arsénico en el suelo se encuentran entre ($\mu\text{g a g}^{-1}$):

<0.1-40 As; 0.01-2.7 Cd; 0.1-65 Co; 1-3000 Cr; 1-100 Cu, 7000- 550000 Fe; 0.008-0.7 Hg; 7-4000 Mn; 0.2-5.0 Mo; 1-1000 Ni; 2-200 Pb; y 3-300 Zn.

Los niveles para considerar un suelo contaminado dependen del elemento en cuestión, uso del suelo y la legislación de cada país (Bernal *et al.*, 2007).

Actualmente la contaminación de suelos y cuerpos de agua es provocada por diversas actividades antropogénicas, algunas de estas son:

- A. Instalaciones de servicio, se han acumulado las evidencias de graves problemas de contaminación de suelos, que conllevan a riesgos de contaminación de acuíferos, por fugas en contenedores de materiales peligrosos, así como por derrames continuos de

- lubricantes, solventes orgánicos y otro tipo de sustancias, por prácticas inadecuadas en su manejo, principalmente en estaciones de servicio de gasolina, talleres de reparación de auto transportes, estaciones e instalaciones de ferrocarriles, terminales de autobuses, aeropuertos y diversas industrias (Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994).
- B. Basureros a cielo abierto, la disposición inadecuada de los residuos sólidos municipales, que pueden contener residuos peligrosos, presentan una seria amenaza de contaminación de los suelos y los cuerpos de agua (Medina *et al.*, 2001).
- C. Explotación de petróleo, las intensas actividades petroleras y de obtención de derivados de petróleo en diversas regiones del país y en el mar, incluidas aquellas donde existe una vulnerabilidad ecológica, han contribuido a una severa contaminación por hidrocarburos y otro tipo de sustancias potencialmente tóxicas, que han penetrado al suelo y contaminado los cuerpos de agua (Garbisu y Alkorta, 2001; Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994).
- D. Actividades industriales, la producción de bienes de consumo a lo largo y ancho del territorio nacional han generado focos importantes de contaminación, en primer término por la falta de conciencia ecológica que prevaleció por muchos años, y en segundo por el manejo inadecuado de materiales y todo tipo de residuos, lo cual representa un serio problema en aquellos lugares donde se desarrollan estas actividades (Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994).
- E. Actividades agrícolas, el empleo de agroquímicos en las actividades agropecuarias, frecuentemente mediante prácticas inadecuadas, constituye una de las formas de contaminación más importantes, que impactan no sólo a los suelos de las áreas donde se aplican sino que llegan a través de los ríos hasta las zonas costeras afectando las especies marinas. La aplicación de plaguicidas generan conflictos sociales por el elevado número de trabajadores del campo intoxicados por estos productos, con un alto índice de mortalidad, así como también por la sospecha de los efectos adversos sobre

la salud de las comunidades vecinas, la flora y la fauna (Garbisu y Alkorta, 2001; Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994).

- F. Uso de aguas residuales en irrigación de campos agrícolas, el empleo de aguas residuales para riego de cultivos agrícolas por su alto contenido de materia orgánica, que actúa como fertilizante, y otras sustancias nocivas, implica el riesgo de que los suelos y los cultivos se contaminen con los residuos químicos provenientes de descargas industriales y municipales (Garbisu y Alkorta, 2001; Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994).
- G. Minería, las explotaciones mineras en muchos años ininterrumpidas, ha dejado tras de sí montañas de residuos mineros conteniendo diversos materiales potencialmente tóxicos, a los cuales se exponen las poblaciones, la flora y la fauna, a través del suelo, el aire y de las aguas contaminadas. En otros casos, existe el riesgo de fenómenos de bioacumulación en las distintas fases de las cadenas alimenticias (Garbisu y Alkorta, 2001; Medina *et al.*, 2001; Porta *et al.*, 1994; Wong, 2003).

2.1.2 Efecto de los contaminantes

El suelo se puede degradar al acumularse en él sustancias a unos niveles tales que repercuten negativamente en el comportamiento de los suelos. Los efectos desfavorables de los contaminantes en el suelo como sistema son (Porta *et al.*, 1994).

1. Destrucción del poder de autodepuración por procesos de regeneración biológica normales, al haber superado la capacidad de aceptación del suelo.
2. Disminución cualitativa y cuantitativa del crecimiento normal de los microorganismos del suelo, o bien alteración de su diversidad.

3. Disminución del rendimiento de los cultivos con posibles cambios en la composición de los productos con riesgo para la salud de los consumidores, al entrar elementos a la cadena trófica.
4. Contaminación de las aguas superficiales y freáticas por procesos de transferencia. se alcanzan concentraciones superiores a las consideradas aceptables.
5. Disminución de las funciones de soporte de actividades de esparcimiento. Los espacios contaminados presentan problemas de salubridad para los usuarios.

2.2 Remediación del suelo

Los metales no se degradan, así que pueden acumularse en el ecosistema a través del tiempo provocando concentraciones elevadas, efectos adversos en la mayoría de los organismos; por ello, se han desarrollado técnicas para remediar a los suelos contaminados de metales pesados (Gardea-Torresday *et al.*, 2002; Kärenlampi *et al.*, 2000; Kelly *et al.*, 2000).

Las técnicas tradicionales de remediación del suelo contaminado con metales pesados generalmente involucran prácticas convencionales de ingeniería civil, aplicadas individualmente o en grupo. En estos procesos físicos, químicos y térmicos principalmente se requiere remover físicamente el suelo del sitio contaminado o bien minimizar el riesgo de exposición (Brennan y Shelley, 1999; McIntyre, 2003).

- A. Contención, incluye a las técnicas denominadas de cobertura, barreras verticales y barreras horizontales. Al aplicar estos procesos el material contaminado se mantiene en su lugar, de manera que no entra en contacto con personas ni con el medio ambiente (McIntyre, 2003; Mulligan *et al.*, 2001; Seoane, 1999; US EPA, 1997).
- B. Solidificación y estabilización, son procesos en los que se mezclan o inyectan agentes de tratamiento al material contaminado para obtener residuos sólidos, reducir la solubilidad del contaminante, disminuir el área de contaminación expuesta o limitar el

contacto entre fluidos y contaminantes. En esta categoría se incluyen técnicas como mezcla de cemento, encapsulación con polímeros y vitrificación (Mulligan *et al.*, 2001; Seoane, 1999; US EPA, 1997, US EPA, 2003).

Las técnicas de remediación antes mencionadas tienen un alto costo, elevado consumo de energía, destrucción del sitio contaminado y problemas de logística (Cunningham *et al.*, 1995; Henry, 2000; Kärenlampi *et al.*, 2000; McIntyre, 2003, Nedelkoska y Doran, 2000; Susarla *et al.*, 2002).

Debido a las limitaciones que presentan las tecnologías tradicionales de remediación surge la necesidad de utilizar técnicas alternas como la Biorremediación (Nedelkoska y Doran, 2000; Raskin *et al.*, 1997).

2.2.1 Biorremediación

El término biorremediación fue acuñado a principios de la década de los 80's, y proviene del concepto de *remediación*, que hace referencia a la aplicación de estrategias físico-químicas para evitar el daño y la contaminación en suelos.

Habitualmente, los casos de contaminación que reciben mayor atención en la prensa son los derrames de petróleo. Pero, en el mundo constantemente están sucediendo acontecimientos de impacto negativo sobre el medio ambiente, incluso en el entorno directo, generados por un gran abanico de agentes contaminantes que son liberados al ambiente.

Un ejemplo lo constituyen algunas industrias químicas que producen compuestos cuya estructura química difiere de los compuestos naturales, y que son utilizados como refrigerantes, disolventes, plaguicidas, plásticos y detergentes.

El problema principal de estos compuestos es que son resistentes a la biodegradación, por lo cual se acumulan y persisten en el ambiente y perjudican a los seres vivos, entre ellos el ser humano.

Entonces, la biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el uso de seres vivos (microorganismos y plantas) capaces de degradar compuestos que provocan desequilibrio en el medio ambiente, ya sea suelo, sedimento, fango o mar.

Los científicos se dieron cuenta que era posible aplicar estrategias de remediación que fuesen biológicas, basadas esencialmente en la observación de la capacidad de los microorganismos de degradar en forma natural ciertos compuestos contaminantes (UAH, 2006).

2.2.1.1 Tipos de biorremediación

En los procesos de biorremediación generalmente se emplean mezclas de ciertos microorganismos o plantas capaces de degradar o acumular sustancias contaminantes tales como metales pesados y compuestos orgánicos derivados de petróleo o productos sintéticos (ArgenBio, 2003). Básicamente, los procesos de biorremediación pueden ser de tres tipos.

a. Degradación Enzimática

Este tipo de degradación consiste en el empleo de enzimas en el sitio contaminado con el fin de degradar las sustancias nocivas. Estas enzimas se obtienen en cantidades industriales por bacterias que las producen naturalmente, o por bacterias modificadas genéticamente que son comercializadas por las empresas biotecnológicas (PQB, 2003).

b. Remediación microbiana

En este tipo de remediación se usan microorganismos directamente en el foco de la contaminación. Los microorganismos utilizados en biorremediación pueden ser los ya existentes (autóctonos) en el sitio contaminado o pueden provenir de otros ecosistemas, en cuyo caso deben ser agregados o inoculados.

c. Fitorremediación

La fitorremediación es el uso de plantas para limpiar ambientes contaminados. Aunque se encuentra en desarrollo, constituye una estrategia muy interesante, debido a la capacidad que tienen algunas especies vegetales de absorber, acumular y/o tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, compuestos orgánicos y radioactivos (PQB, 2003).

Ventajas:

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

Desventajas:

- El proceso se limita a la profundidad de penetración de las raíces o aguas poco profundas.
- Los tiempos del proceso pueden ser muy prolongados.

2.2.1.2 Tipos de Fitorremediación

La biodisponibilidad de los compuestos o metales es un factor limitante de la captación de los mismos. Las plantas pueden incorporar las sustancias contaminantes mediante distintos procesos los cuales se representan en el diagrama 1 (PQB, 2003).

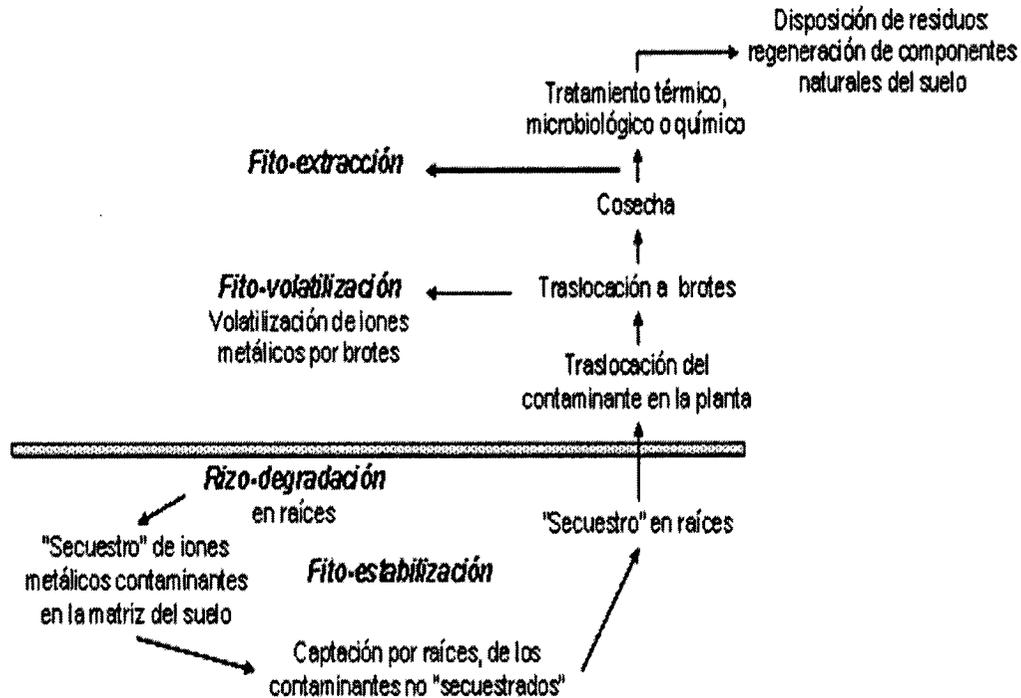


Diagrama 1. Representación sobre los tipos de Fitorremediación (INE, 2005).

La fitorremediación contempla seis procesos básicos a través de los cuales las plantas pueden contribuir a la recuperación de suelos, sedimentos y aguas contaminadas. Dependiendo de la estrategia de recuperación, estos procesos darán lugar a la contención o a la eliminación de los contaminantes del suelo. La fitoestabilización y la fitoinmovilización corresponden a la primera de las dos estrategias, mientras que la fitoextracción, fitodegradación, fitovolatilización y rizofiltración representan procesos de eliminación, ver tabla 1 (Bernal *et al.*, 2007).

Tabla 1. Tipos de Fitorremediación, indicando la zona de la planta en donde ocurre este proceso (PQB, 2003).

Tipo	Proceso Involucrado	Contaminación Tratada
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar metales en las partes cosechables (hojas y raíces)	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc
Rizofiltración	Las raíces de las plantas se usan para absorber, precipitar y concentrar metales pesados a partir de efluentes líquidos contaminados y degradar compuestos orgánicos	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc isótopos radioactivos, compuestos fenólicos
Fitoestabilización	Las plantas tolerantes a metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje a napas subterráneas o al aire.	Lagunas de deshecho de yacimientos mineros. Método Propuesto para compuestos fenólicos y compuestos clorados.
Fitoestimulación	Se usan los exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos).	Hidrocarburos derivados del petróleo y los poliaromáticos como benceno, tolueno, antraceno, etc
Fitovolatilización	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración.	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano).
Fitodegradación	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	Municiones (TNT, DNT, RDX, nitrobenzono, nitrotolueno), antraceno, solventes clorados, DDT, pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, etc.

Básicamente, dos tipos de fitorremediación son aplicables a los suelos contaminados por metales pesados: la Fitoestabilización y la Fitoextracción.

La Fitoestabilización se utiliza en los suelos donde la gran cantidad de contaminantes imposibilita la Fitoextracción, y se basa en el uso de plantas tolerantes a los metales para inmovilizarlos a través de su absorción y acumulación en las raíces o precipitación en la

rizosfera, reduciendo así su movilidad y su biodisponibilidad para otras plantas o microorganismos.

Por otra parte, la Fitoextracción, también conocida como fitoacumulación, Es la captación de iones metálicos por las raíces de la planta y su acumulación en tallos y hojas (Diagrama 2). Hay plantas que absorben selectivamente grandes cantidades de metales acumulando en los tejidos concentraciones mucho más altas que las presentes en el suelo o en el agua. Este proceso se ha utilizado para eliminar hidrocarburos de agua y suelo con cultivos alfalfa, álamos, enebro (Vázquez, 2003).

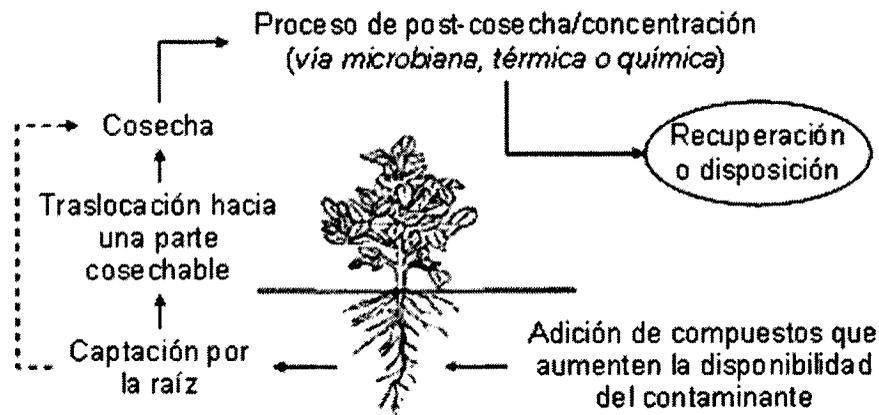


Diagrama 2. Representación de la Fitoextracción (INE, 2005).

Un objetivo importante de la fitoextracción es maximizar el crecimiento de las plantas. En algunos ensayos de fertilización del suelo se han conseguido incrementos significativos de la biomasa de diferentes especies del género *Alyssum* (Kidd *et al.*, 2007). El cultivo puede ser, entonces, cosechado en el momento de máxima acumulación metálica en la biomasa aérea, que frecuentemente se da en el estado de media floración (Angle *et al.*, 2001). Robinson *et al.*, (1997) consiguieron aumentar tres veces la biomasa de *A. bertolonii* (hasta 9 ton ha⁻¹) con fertilización NPK. La fertilización también hizo multiplicar por 10 la biomasa de *A. serpyllifolium* subsp. *lusitanicum* desarrollada en suelos de mina contaminados con metales (Kidd *et al.*, 2007).

Aunque estas técnicas han sido probadas y son de indudable ayuda, también presentan sus limitaciones, ejemplificadas en el denominado *efecto barrera*: con algunas pocas excepciones, las plantas pueden acumular un determinado elemento solamente hasta un cierto nivel. De hecho, en el caso del mercurio, las raíces pueden actuar a modo de barrera impidiendo que el elemento ascienda hacia los órganos superiores de la planta (UCLM, 2007).

En este sentido las plantas pueden ser clasificadas en cuatro categorías:

- Sin efecto de barrera, las que concentran linealmente el elemento químico investigado.
- Semi barrera, que concentran entre 30 y 300 veces el valor de fondo del elemento en la planta.
- Con barrera, contenidos de hasta 3-30 veces el valor de fondo.
- Con barrera de fondo, que no superan las concentraciones normales del elemento en una determinada planta (UCLM, 2007).

2.3 Metales pesados

Se considera metal pesado a aquel elemento igual o superior a 5g/cm^3 cuando esta en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos que aunque son metales ligeros o no metales suelen englobarse con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es el caso del As, B, Ba y Se (García y Dorronsoro, 2001).

Los metales que se consideran causantes de problemas de contaminación son: Pb, Cr, Cd, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Sn, Ba, Hg (Porta *et al*, 1994).

Dentro de los metales pesados hay dos grupos:

- A. Oligoelementos o Micronutrientes.- Requeridos en pequeñas cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, pasando cierto umbral son tóxicos. Dentro de este grupo se encuentra: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn (Dorronsoro, 2001; Nedelkoska y Doran, 2000).
- B. Metales pesados sin función biológica conocida.- La presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son Principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi (Maqueda, 2003).

2.3.1 Acumulación de metales en el suelo

Los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías (García y Dorronsoro, 2001).

- A. Quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución del suelo o bien fijados por procesos de adsorción, complejación o precipitación.
- B. Son absorbidos por las plantas e incorporados a las cadenas tróficas.
- C. Se volatilizan a la atmósfera.
- D. Pueden contaminar a las aguas superficiales o subterráneas

Dependiendo del metal en cuestión, las prácticas de manejo del suelo, como la modificación del pH y la fertilización, pueden tener diferentes efectos sobre la absorción. Por ejemplo, se ha demostrado que la acidificación del suelo favorece la hiperacumulación de Cd o Zn, aunque un exceso de acidez puede inducir fitotoxicidad de Al o Mn (Brown *et al.*, 1995, Wang *et al.*, 2006). Por el contrario, la absorción y acumulación aumentan con el incremento

del pH (Li *et al.*, 2003). En disoluciones hidropónicas, también se aumenta la acumulación en *A. serpyllifolium* subsp. *lusitanicum* (población Samil) al aumentar el pH de la solución nutritiva.

2.3.2 Proceso de acumulación de metales en las plantas

Aunque las plantas hiperacumuladoras tienen una extraordinaria capacidad para absorber metales pesados, esta capacidad depende de la biodisponibilidad de los metales en el suelo y, particularmente, del suministro a partir de formas menos disponibles para la planta (McGrath *et al.*, 1997, Wenzel *et al.*, 2003). Los metales aparecen en el suelo unidos a fracciones con distinto grado de labilidad: cambiables, ligados a materia orgánica, a óxidos de hierro y manganeso, y a estructuras minerales.

El concepto de biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones fisicoquímicas del ambiente, que determinan el espesamiento y por lo tanto la concentración del metal libre y lábil. Por ello es fundamental al determinar el grado de contaminación de un ambiente por los metales pesados, conocer su biodisponibilidad, es decir, la concentración del metal libre y lábil presente en la muestra (Brown *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2002; Krishnamurti y Naidu, 2000; Lussier *et al.*, 1999; Manson y Lawrence, 1999).

El equilibrio dinámico que se establece entre estas fracciones, más que el contenido total de los metales, determina la movilidad y la biodisponibilidad, siendo el pH, el potencial redox, y la cantidad y tipos de materia orgánica y arcillas los factores edáficos más importantes en su control (Korcak y Fanning, 1985). Además, las condiciones de la interfase raíz-suelo (rizosfera) pueden ser modificadas por la planta, a través de la producción de exudados radiculares y rizo-depósitos (mucílago y restos celulares), (Adriano, 2001; Lombi *et al.*, 2001; Puschenreiter *et al.*, 2003; Wenzel *et al.*, 2003).

De acuerdo a Maqueda (2003), el proceso de acumulación de metales involucra en general los siguientes mecanismos.

- A. Los iones alcanzan la zona de absorción de la raíz por difusión a través de la solución salina del suelo, son arrastrados por el movimiento del agua hacia la raíz o entran en contacto con la zona de absorción a medida que la raíz crece. (Fernández y Maldonado, 2000). Los iones metálicos son movilizados por la secreción de quelantes o por la acidificación de la rizosfera.

- B. Las raíces capturan los metales hidratados o los complejos metal-quelante por medio de sistemas de transporte como bombas primarias, canales iónicos y transportadores. Dentro de las células los metales son quelatados principalmente por fitoquelatinas; el exceso de metales es transportado a la vacuola.

- C. Los metales se transportan a la parte aérea vía el xilema, dentro de los metales se presentan como iones hidratados o como un complejo metal-quelante principalmente con histidina y ácido cítrico como ligantes.

- D. Después de penetrar el apoplasto de la hoja, los metales se distribuyen dentro de las células, manteniendo en cada organelo las concentraciones dentro de rangos fisiológicos específicos. El exceso de metales esenciales y no esenciales se almacenan en la vacuola.

2. 3. 3 Toxicidad de los metales pesados

La toxicidad de los metales pesados es muy alta. 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. Para que los metales pesados puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, deben encontrarse disponibles para ser captados por éste, es decir que el metal debe estar biodisponible.

Además, la toxicidad de los metales pesados depende de la concentración, la forma química y la persistencia. La mayoría de los metales pesados se combinan con otras formas

químicas, antes de entrar en los organismos o cuando se encuentran en el interior de los mismos; por lo tanto, antes de determinar la toxicidad de un elemento es necesario determinar la forma química en la que se encuentra.

La toxicidad es causada frecuentemente por la imposibilidad del organismo afectado para mantener los niveles necesarios de excreción. El proceso se agrava durante el paso por las distintas cadenas tróficas, debido a que los niveles de incorporación sufren un fuerte incremento a lo largo de sus sucesivos eslabones, siendo en los superiores donde se hallan los mayores niveles de contaminantes.

Otro aspecto importante a considerar es la presencia simultánea (mezcla) de los metales pesados, ya que sus efectos pueden ser tanto tóxicamente sinérgicos o antagónicos (la toxicidad se reduce al mezclarse), por tanto existe cierta dificultad para predecir los efectos reales de los contaminantes en el medio. Los efectos de un compuesto o de la mezcla de ellos pueden ser inocuos, letales o subletales (no matan al individuo pero producen daños a nivel genético o fisiológico) (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 3. 4 Mecanismos de resistencia a metales

Los vegetales que crecen en sitios contaminados han desarrollado mecanismos de tolerancia a su medio ambiente, a la fecha dichos mecanismos no han sido comprendidos en su totalidad; sin embargo, las posibles estrategias se clasifican en dos categorías:

- A. Exclusión, implica la formación de compuestos bioquímicos complejos en el medio ambiente o en la pared celular de las plantas; precipitación de metales en el exterior, a través de la secreción de mucílagos y otros compuestos orgánicos; alteración de los sistemas de transporte en la membrana para reducir la entrada de metales y aumentó la actividad de ciertas bombas iónicas (Lasat, 2002; Maiti *et al.*, 2002; McGrath *et al.*, 2002; Mejáre y Bülow, 2001; Raskin y Ensley, 2000; Salt *et al.*, 1998).

- B. Inclusión y acumulación, comprende la captura en el interior de las células donde no tiene efectos tóxicos como en la vacuola y la pared celular; destoxificación interna de los metales a través de la incorporación de proteínas, ácidos orgánicos, histidina y péptidos ricos en grupos tiol denominados fitoquelatinas ; reacciones de oxidoreducción las cuales cambian el estado reactivo de los metales a una forma menos tóxica (Chaney *et al.*, 1997; Garbisu y Alkorta, 2001; Lasat, 2002; Maiti *et al.*, 2002; McGrath *et al.*, 2002; Mejáre y Bülow, 2001; Salt, *et al.*, 1998).

2. 4 Fabricación biológica de metales

Las plantas denominadas fitorremediadoras, poseen como atributos ideales la capacidad de acumular los metales de interés, preferiblemente en la parte superior de la planta; son tolerantes a la concentración de metal acumulado, crecen rápido; generan elevada producción de biomasa; resultan fácilmente cosechables y contienen sustancias que impiden que los herbívoros las consuman, para evitar la transferencia de metales pesados a la cadena alimenticia (Garbisu y Alkorta, 2001; Gisbert *et al.*, 2003; Kärenlampi *et al.*, 2000; McIntyre, 2003).

Ya que la disponibilidad de los metales de transición en los suelos es muy variable, aunque normalmente tiende a ser baja, las plantas desarrollan mecanismos eficientes para su captura, transporte y asimilación. Las raíces son los sitios en donde normalmente ocurre la captura de estos metales, para de allí ser transportados hacia el resto de la planta. El mecanismo normal de absorción de metales involucra la acción de agentes quelantes, solubilizadores o facilitadores de la disponibilidad del metal en el suelo, los cuales forman complejos que son transportados al interior de los tejidos radicales en donde el metal es reducido por una reductasa específica. Cuando los metales se encuentran en la solución de agua del suelo en forma iónica no forman estos complejos, por lo cual deben ser reducidos por una reductasa de la membrana o de la pared celular, para ser movilizados luego al interior de la célula por medio de una proteína transportadora (Anderson y Beardall, 1991).

Al parecer los sitios naturales de almacenamiento de los metales son las vacuolas, los cloroplastos y las mitocondrias, las cuales son de manera natural fábricas de nanoestructuras biológicas (Anderson y Beardall, 1991).

2. 4. 1 Mecanismos celulares que ocurren durante la tolerancia y detoxificación de los metales pesados en las plantas

Para poder comprender la genética molecular de la acumulación de los metales pesados es necesario un conocimiento profundo de la interacción de los mismos con el entorno tanto en el interior de la planta como en el exterior de la misma (Navarro-Aviño *et al.*, 2006).

La propia inmovilidad de las plantas les obliga a desarrollar estrategias muy precisas para sobrevivir en los suelos con altos niveles de metales. La mayor parte de las especies que toleran la presencia de metales son especies que impiden su entrada en la raíz y su transporte a los tejidos fotosintéticos, son las especies exclusoras (Becerril *et al.*, 2007).

Las más raras y escasas entre las especies tolerantes son las que acumulan metales en sus tejidos aéreos, incluso cuando la concentración de los metales en el suelo es muy baja; son las especies hiperacumuladoras. Su concentración final en los tejidos aéreos depende del metal y de la especie, llegando a superar el 2% de su peso seco (Brooks, 1998). La especies más comunes son las hiperacumuladoras de Ni siendo más escasas las de Co, Cu, Zn, Cr, Pb y Cd. La habilidad para concentrar metales en los tejidos se ha relacionado con una función defensiva frente al estrés biótico (Poschenrieder *et al.*, 2006) y con la disminución de la competencia con otras especies vegetales mediante interacción alelopática (alelopatía elemental) (Boyd y Martens, 1998). En cualquier caso estas especies deben tener garantizados mecanismos de tolerancia interna para inmovilizar, compartimentar y desintoxicar los metales que llegan al interior de la celular. Los mecanismos más eficientes son la formación de los complejos metálicos en el citosol mediante compuestos orgánicos producidos por las plantas, y la compartimentación de los metales en las vacuolas (Becerril *et al.*, 2007).

2.4.1.1 Pared celular y exudados de la raíz

La raíz constituye el tejido de la entrada principal de los metales pesados en la planta. Hasta allí los metales pesados pueden llegar, fundamentalmente, por un proceso de difusión en el medio, mediante un flujo masivo y por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido en gran medida a la presencia de grupos carboxilo del ácido péptico. Las cargas negativas de estas células de la rizodermis interaccionan con las positivas de los metales pesados presentes en el suelo, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular. De esta forma, los cationes entran por la pared celular, que además es hidrofílica, lo que facilita el transporte iónico. Una vez unidas las cargas positivas a las negativas de la pared celular, los metales pesados se transportan, en parte por la vía apoplástica, y en parte por la simplástica. No obstante, se ha demostrado recientemente que parte del flujo de metales pesados, al menos en el caso del Pb puede quedar retenido en la pared celular por la estructura de la lignina y la celulosa (Marmioli *et al.*, 2005). La exudación de los mucílagos que forman una capa externa a la raíz (mucigel), también favorece la complejación de los metales pesados como el Cd, Cu y Pb (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2.4.1.2 Membrana plasmática

La membrana plasmática es un sistema complejo y de un funcionamiento altamente sofisticado, siendo como es la puerta de entrada de cualquier elemento (señal, nutriente, tóxico, etc.) al lugar donde se realiza la química que mantiene la vida de la célula. La membrana plasmática es utilizada por la célula para mantener los gradientes iónicos, que a su vez regulan el volumen celular. La membrana plasmática, por tanto, se ve afectada rápidamente por los metales pesados. Sobre ella se producen efectos específicos según el metal, promoviendo daños mediante varios mecanismos (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

Sin embargo la membrana plasmática puede estar involucrada en la tolerancia a metales pesados reduciendo la captación o estimulando las bombas de flujo de metales que promueven la entrada al citosol. Se sabe que las plantas tolerantes protegen la membrana de la siguiente manera (Navarro-Aviño *et al.*, 2007):

- Mediante mecanismos de reparación que mantienen la integridad de la membrana plasmática.
- Utilizando mecanismos de protección como proteínas de choque térmico, metalotioneinas, etc.
- Mejorando los mecanismos de homeostasis del metal.
- Promoviendo un influjo reducido a través de la membrana plasmática.
- Promoviendo un eflujo selectivo (metabólicamente, es decir energéticamente, más conveniente que los mecanismos específicos de influjo y restricción).

Las plantas poseen varias clases de transportadores de metal que deben estar involucrados en la homeostasis y la tolerancia. Hay, sin embargo, pocas evidencias directas al respecto, sobretodo para el sistema de eflujo (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 4. 1. 3 Quelación

Uno de los aspectos más importantes de la acumulación de metales pesados es el que se refiere al proceso de complejación. La planta utiliza este mecanismo de complejación en el interior de la célula para detoxificar (amortiguar) los metales pesados, uniendo a ellos ligandos para formar complejos. De esta manera, el metal queda inmerso en una interacción química que le mantiene en equilibrio electrónico (acomplejado), pero que no lo deja fuera del metabolismo, no se ha eliminado del citoplasma de la célula y, por ello, sigue siendo potencialmente tóxico. Como se ha mencionado anteriormente, los metales pesados muestran gran afinidad por determinados grupos funcionales como los ligandos, los grupos sulfhidrilo, los radicales amino, los fosfato, los grupos carboxilo e hidroxilo. Los ligandos que utiliza son básicamente aminoácidos y ácidos orgánicos, y más específicamente, dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metalotioneinas. Entre los aminoácidos y los ácidos orgánicos se

encuentran los ácidos cítrico y málico, la histidina, la cisteína etc. (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 4. 1. 3. 1 Metalotioneinas (MTs)

Fueron las primeras proteínas identificadas en los mamíferos como transportadoras de Cd. Son polipéptidos de unos 70 a 75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, el aminoácido capaz de formar complejos con los cationes mediante el grupo sulfhidrilo que posee como radical. Son pues las proteínas de transporte de los metales, ricas en cisteína y de bajo peso molecular. Se cree que son las responsables esenciales de la quelación de los metales pesados en el citoplasma de las células de los mamíferos y las bacterias, pero se piensa también que no son proteínas tan decisivas en el proceso de quelación de los metales pesados en plantas (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 4. 1. 3. 2 Fitoquelatinas (PCs)

Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que complejan los metales pesados. Los cuales fueron identificados después que las MTs. Se piensa que las fitoquelatinas pueden desempeñar en las plantas el papel equivalente al que las metalotioneínas desempeñan en los mamíferos y las bacterias. Las fitoquelatinas pueden inducir rápidamente en las plantas al tratarlas con metales pesados. Su disminución provoca una mayor sensibilidad a los metales pesados, por tanto su papel en la tolerancia y acumulación de metales pesados en las plantas es crítico (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

Las fitoquelatinas tienen como sustrato el glutatión. El glutatión está considerado el péptido más abundante de la Tierra. Además, o quizás esto explique su abundancia, es una molécula clave en el balance del estado oxidativo de la célula. También participa en los procesos de detoxificación de diversas sustancias nocivas, y es capaz de quelar metales pesados por sí misma. En realidad el glutatión participa en una gran variedad de procesos de los cuales se han señalado sólo los más esenciales (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

. Modo de acción de las PCs. Las PCs se sintetizan en el citosol, donde se unen a los compuestos metálicos formando complejos. Sin embargo, análisis cromatográficos y de rayos X detectan mayores concentraciones de metal y PCs en el interior de la vacuola, por lo que se deduce que el transporte y la acumulación en su interior están implicados en la tolerancia y la detoxificación. En consecuencia, parece ser que el paso final en el proceso de la detoxificación, esto es, desde la movilización del metal del suelo a las raíces hasta llegar al interior de las células tanto de la raíz como de las hojas, es la compartimentalización vacuolar (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 4. 1. 4 Compartimentalización (acumulación ó asimilación) vacuolar

El bombeo de los iones al exterior de la célula y el transporte al interior de la vacuola constituyen dos maneras diferentes de conseguir el mismo objetivo: reducir la concentración de metales tóxicos en el citoplasma. La diferencia importante entre ambos, es que mientras en el primer caso no es una garantía de que el problema de la toxicidad esté resuelto, en el segundo caso sí lo es. Además del bien documentado proceso de la acumulación, de los complejos PCs-Cd en la vacuola, hay evidencias de la acumulación de otros metales, involucrando diferentes sistemas de transporte desde el tonoplasto como Zn, Ni, etc. Dentro de la vacuola se forman complejos PCs-Cd de peso molecular bajo y alto, lo que parece indicar que el mecanismo de procesamiento en el citoplasma y el almacenamiento es un proceso sofisticado y complejo que requiere un mejor conocimiento (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2. 4. 1. 5 Biotransformación

Para reducir la respuesta tóxica de una sustancia en un organismo hay que disminuir la cantidad de sustancia en forma activa (tóxica) y el tiempo de permanencia de la misma en el sitio de acción, incrementando la polaridad ya que ello aumenta la difusibilidad del tóxico y por tanto puede incrementar la velocidad de excreción. Además, muchas sustancias tóxicas que ven incrementada su polaridad se convierten en sustratos accesibles para posteriores reacciones de detoxificación, reacciones que, por otra parte, no serían posibles de no aumentar la polaridad. Con frecuencia pues, se trata de convertir un xenobiótico (compuestos cuya

estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio) no polar en un compuesto soluble en agua. Estas reacciones se agrupan en dos conjuntos denominados Biotransformación Fase I y Biotransformación Fase II:

Fase I. Biotransforma los xenobióticos convirtiéndolos en sustratos de los enzimas de la Fase II, al mismo tiempo que los hace más hidrófilos.

Fase II. Agrega un grupo polar de tamaño relativamente grande a los productos de las reacciones de la Fase I, o a los xenobióticos originales que contienen los grupos funcionales apropiados para ser sustratos de las reacciones de conjugación (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2.4.1.6 Mecanismo de reparación celular

Estos mecanismos se activan para restablecer las características iniciales de la célula. Los mecanismos mejor conocidos son los que participan en la síntesis de los componentes de pared, y aquellos mecanismos que participan en la activación de los procesos de reparación de errores rutinarios en la copia del ADN. Se sabe que en la reparación de la membrana plasmática después del daño causado por la presencia de los metales pesados están involucradas las metalotioneinas y, sobre todo, las proteínas de choque térmico. Estas últimas incrementan su expresión en gran variedad de organismos en respuesta al incremento de las temperaturas por arriba de la óptima. También se expresan en respuesta a otros estreses como los metales pesados, de forma que actúan como protección y reparación de proteínas. Se ha comprobado que un estrés corto por calor antes del estrés por metales pesados induce un efecto de tolerancia, previniendo el daño en la membrana (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

2.5 Plantas hiperacumuladoras de metales

Brooks *et al.*, (1977) establece el concepto de "planta hiperacumuladora" para describir a aquellas plantas que contenían niveles de níquel equivalentes o superiores a 1000

microgramos de metal por gramo de materia seca (0,1%). Aunque el níquel no está considerado como un elemento esencial para las plantas, sí se trata del elemento hiperacumulado por el mayor número de especies vegetales y actualmente integra la lista de los elementos esenciales de las plantas.

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; Pollard *et al.*, 2000; Poschenrieder *et al.*, 2006).

Las plantas adecuadas para llevar a cabo acciones de este tipo deben cumplir algunas características como la tolerancia al metal que se desea eliminar, que la acumulación se produzca fundamentalmente en la parte aérea de la planta, y que presenten un rápido crecimiento, así como una alta producción de biomasa en la parte aérea. Una de las líneas de investigación actuales es la transferencia y mejora de los genes de estas plantas hiperacumuladoras (Brooks, 1998).

Otros metales como zinc, magnesio, manganeso y cobre son requeridos por las plantas en, al menos, pequeñas cantidades. No obstante, cuando los niveles de metales en plantas sobrepasan un determinado umbral, resultan tóxicos para un amplio margen de vegetales. Sólo determinadas especies pueden hiperacumular metales. Actualmente se conocen plantas hiperacumuladoras no sólo de níquel, sino también de zinc, cobre, selenio, cadmio, manganeso y cobalto (Vázquez, 2003).

El uso de la vegetación como método de investigación involucra la respuesta de las plantas a su medio, en particular al substrato químico que las soporta. Esta metodología se basa en el análisis químico de las plantas como medio para obtener evidencias acerca de las posibles anomalías geoquímicas que se oculten en profundidad. La biogeoquímica se adapta muy bien a aquellas regiones que presentan una vegetación muy densa y donde la cartografía geológica es difícil de ser llevada a cabo (ausencia de afloramientos) (Kochian, 1995).

Se conocen alrededor de 400 especies de plantas con capacidad para hiperacumular selectivamente alguna sustancia. En la mayoría de los casos, no se trata de especies raras, sino de cultivos conocidos. Así, el girasol (*Heliantus annuus*) es capaz de absorber en grandes cantidades el uranio depositado en el suelo. Los álamos (género *Populus*) absorben selectivamente níquel, cadmio y zinc (Wangensteen, 2002). En la tabla 2 se observan algunas especies y metales que pueden acumular.

Tabla 2. Contenido de metales pesados en algunas plantas hiperacumuladoras. (PQB, 2003)

Elemento	Especie	Concentración (mg/Kg, Peso Seco)	Biomasa (Ton/ Ha/Año)
Cd	<i>Thlaspi caerulescens</i>	3,000	4
Co	<i>Haumaniastrum</i>	10, 200	4
Cu	<i>H. katangense</i>	8, 356	5
Pb	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8, 200	4
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	55, 000	30
Ni	<i>Alyssum bertolonii</i>	13, 400	9
	<i>Berkheya coddii</i>	17, 000	18
Se	<i>Astragalus pattersoni</i>	6, 000	5
Ta	<i>Iberis intermedia</i>	3, 070	8
Zn	<i>Thlaspi Calaminare</i>	10, 000	4

2. 6 Recuperación de los metales acumulados en las plantas

En general, hay plantas que convierten los productos que extraen del suelo a componentes inocuos, o volátiles. Pero cuando se plantea realizar un esquema de fitorremediación de un cuerpo de agua o un área de tierra contaminados, se siembra la planta con capacidad (natural o adquirida por ingeniería genética) de extraer el contaminante particular, y luego del período de tiempo determinado, se cosecha la biomasa y se incinera. De esta forma, los contaminantes acumulados en las plantas no se transmiten a través de las cadenas alimenticias a otros organismos.

El movimiento de los constituyentes inorgánicos de la planta es controlado selectivamente, de manera que algunos elementos son admitidos libremente mientras que otros son rechazados en mayor o menor grado. Aunque las raíces rechacen (en mayor o menor

grado) selectivamente a algunos elementos tales como el plomo, el vanadio o el mercurio, una parte significativa llega a los órganos superiores de la planta y puede ser fácilmente detectada mediante análisis químicos.

Esta capacidad de algunas plantas de acumular elementos químicos las hace doblemente interesantes, ya que por un lado, nos permiten detectar anomalías en un determinado elemento químico, y por otra, dada su capacidad de acumulación, pueden ser utilizadas para “limpiar” un terreno contaminado (Llugany *et al.*, 2007)

Tras su cosecha, los restos vegetales pueden ser reciclados o confinados de una forma poco costosa, lo que constituye una estrategia económica para la limpieza de suelos contaminados. Una limitación importante de la aplicación práctica de la mayoría de las especies hiperacumuladoras en la fitorremediación es su reducido tamaño y escasa biomasa. Optimizar las prácticas de manejo del suelo y la cosecha, con el objeto de incrementar su productividad y la concentración de metales en la biomasa, así como cultivar especies hiperacumuladoras mejoradas, podría ser, por tanto, una combinación clave en el desarrollo último de esta técnica (Kidd *et al.*, 2007).

2. 7 Nanotecnología

La nanotecnología manipula materiales naturales y sintéticos a escala atómica y molecular. Abarca todos los procesos que implican medición, manipulación y fabricación a nivel de entre 1 y 100 nanómetros, siendo un nanómetro equivalente a una mil millonésima parte del metro. Un sólo cabello humano tiene aproximadamente 80,000 nanómetros de espesor, brindándonos una idea de la escala en que opera la nanotecnología. Las herramientas y procesos nanotecnológicos virtualmente se pueden aplicar a todos los artículos manufacturados en todos los sectores de la industria. Las aplicaciones comerciales son, por lo tanto, potencialmente ilimitadas (UITA, 2007).

Un campo potencial de estudio es el desarrollo de procesos biológicos para la síntesis de nanopartículas, el cual se está convirtiendo en una rama importante de la nanotecnología (Klaus *et al.*, 1999).

2. 7. 1 Nanopartículas metálicas

Se espera que la nanotecnología abra nuevas vías para atacar y prevenir enfermedades usando materiales a la medida en escala atómica. Entre los más promisorios nanomateriales con propiedades antimicrobianas están las nanopartículas metálicas, las cuales exhiben una notable actividad química debido a su alta relación de superficie a volumen y una estructura superficial cristalográfica.

El estudio de nanomateriales con propiedades antimicrobianas es particularmente importante en los tiempos actuales considerando el reciente incremento de nuevas cepas de bacterias resistentes a los más potentes antibióticos. Esto ha impulsado recientemente la investigación a nivel mundial en la bien conocida actividad antimicrobiana de los iones de plata y sus compuestos incluyendo nanopartículas de plata. Además de la excelente acción antimicrobiana de la plata, este es un metal inorgánico no tóxico que puede matar e inhibir muchos tipos de microorganismos dañinos para el cuerpo humano. Debido a su tamaño nanométrico las nanopartículas metálicas ofrecen además la ventaja de una mayor área superficial incrementando su grado de efectividad en contra de los diferentes microorganismos (Furno *et al.*, 2004).

Shankar *et al.*, (2003) reportan el uso de extractos foliares de geranio (*Pelargonium graveolens*) tratados con soluciones de nitrato de plata, obteniendo una rápida reducción de los iones plata.

La tasa de reducción de los iones de plata por el extracto foliar de geranio fue mayor a la reportada para hongos como *Fusarium*. Esto posibilita utilizar las plantas como dispositivos de síntesis de nanopartículas. Yacaman *et al.*, (2003) reportaron la obtención y aislamiento de nanopartículas metálicas utilizando como modelo la planta de alfalfa.

Se ha demostrado entonces que es posible la formación de nanopartículas metálicas en células de plantas o en condiciones de crecimiento de las plantas que hagan óptima la absorción, la acumulación, la estabilidad y tamaño de los nanocristales, los sitios de acumulación, la tasa de recuperación, así como los procesos involucrados con el aislamiento y purificación de las nanopartículas metálicas.

III. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

La aparición de la fitorremediación enseguida tuvo eco entre los investigadores europeos y, fruto de ello, fueron varias iniciativas, proyectos, etc. entre los que se destacan la creación de redes científicas específicas, como: *PHYTONET* (Marmiroli y Monciardini, 1999), y las acciones *COST 837* (1998-2003) y *859* (en vigor hasta 2009) (Vanek y Schwitzguébel, 2003).

Gran parte del trabajo que se está realizando es completamente empírico, y consiste en comprobar simplemente qué variedades de plantas absorben más fácilmente los contaminantes. Ni siquiera se conoce qué mecanismo evolutivo ha sido el que ha permitido la aparición de estas especies hiperacumuladoras. Durante años, los científicos pensaron que la acumulación de altas concentraciones de metales venenosos permitiría a estas plantas ser evitadas por sus depredadores.

Sin embargo, recientes experimentos han probado que diversas especies de herbívoros tienden a comerse las plantas acumuladoras en la misma cantidad que las especies que no absorben los metales pesados, por lo que la aparición de los fitorremediadores en la naturaleza continúa siendo un misterio (Wangensteen, 2002).

Se conocen alrededor de 400 especies de plantas con capacidad para hiperacumular selectivamente alguna sustancia. En la mayoría de los casos, no se trata de especies raras, sino de cultivos conocidos. Se considera que América Latina y Europa son los mayores focos de biodiversidad de las metalofitas (Whiting *et al.*, 2004).

La fitorremediación viene utilizándose principalmente para la descontaminación de los suelos con exceso de sales o metales pesados desde hace veinticinco a treinta años. Con el tiempo esto llevó a otra diversificación, en el uso de la tecnología en la extracción de metales preciosos como el oro y la plata, y otros metales de interés industrial como el estaño, el cobre, etc.; llamando a esta técnica fitominería, la cual ha venido desarrollándose en Europa desde hace más de 10 años.

La fitominería es muy usada a nivel mundial, pues es una tecnología económica, ecológica y de una estética agradable. También se ha utilizado esta técnica para la descontaminación de suelos con elementos radioactivos como en el caso de Bosnia y Chernovil con resultados muy satisfactorios. Actualmente, continúa la búsqueda de más variedades de metalofitas y pseudosmetalofitas a través del uso de transgénicos.

Por otra parte, ya se están obteniendo los primeros avances para la comprensión de los mecanismos moleculares por los cuáles las plantas absorben estos metales raros, que serían venenos peligrosos para otras especies, y los incorporan como nutrientes.

Los científicos especulan con la posibilidad de aislar los genes responsables de la absorción y de la tolerancia a los metales pesados, e incorporarlos mediante técnicas de genética molecular a especies de rápido crecimiento o que toleren las más variadas condiciones climáticas, para crear plantas hiperacumuladoras transgénicas que sirvan para cubrir cualquier necesidad en cualquier parte del mundo. Además es deseable que su cosecha se pudiera automatizar fácilmente y que el metal pueda recuperarse para su reciclado y obtener así un beneficio económico adicional (Wangensteen, 2002).

Por lo anterior, existe la posibilidad de que en años venideros se puedan producir nanopartículas metálicas con el uso de la fitominería; pero uno de los principales obstáculos es la recuperación de los mismos, aunque hay métodos tanto químicos como físicos de laboratorio, es necesario el desarrollo de diferentes metodologías para la recuperación de metales a escala industrial, por lo que actualmente en Estados Unidos, Inglaterra, España, Canadá, Chile y Argentina ya están trabajando en ello.

IV. ÁREAS DE OPORTUNIDAD

El gran interés despertado por el estudio integral de los procesos biológicos, especialmente para detoxificar un ambiente contaminado (fitorremediación), obliga también a que se potencie la investigación conjunta de diversos campos como botánica, fisiología vegetal, agronomía, química y genética. Será posible desarrollar técnicas, entender o comprender mejor los procesos biológicos que se llevan a cabo en el interior de las plantas para poder obtener el máximo aprovechamiento de sus propiedades de acumulación de metales.

Es clara la necesidad de estrategias de remediación durables y de bajo costo, puesto que las opciones de remediación generalmente aplicados a suelos contaminados con metales pesados son frecuentemente de costo elevado y también destruyen los componentes bióticos del suelo (Maqueda, 2003). Es esencial abordar con urgencia la remediación de los suelos contaminados para así garantizar la sustentabilidad que nos provee el ecosistema suelo (Garbisu *et al.*, 2007).

Actualmente existen especies vegetales que han desarrollado mecanismos fisiológicos extremadamente especializados para resistir, tolerar y prosperar en medios tóxicos e infértiles (Whiting, *et al.*, 2004). Así, el girasol (*Helianthus annuus*) es capaz de absorber en grandes cantidades el uranio depositado en el suelo, bien por accidentes nucleares (como el de Chernobil) o por el uso bélico de proyectiles contruados a base de este metal (como es el caso de Bosnia). *Amaranthus retroflexus* ha mostrado ser 40 veces más efectiva en absorber el amenazador cesio-137 radiactivo, que es uno de los más peligrosos contaminantes de las centrales nucleares, por su capacidad de pasar a la leche de vaca y de ahí a la alimentación humana. *Pteris vittata*, es capaz de absorber el peligroso arsénico, pudiéndolo concentrar hasta 200 veces respecto al suelo de donde lo toma. Esto nos da una herramienta importante para detoxificar suelos radioactivos o zonas con alta radioactividad natural.

Los álamos (género *Populus*) absorben selectivamente níquel, cadmio y zinc. *Arabidopsis thaliana*, es capaz de hiperacumular cobre y zinc. *Thlaspi caerulescens*, ha

demostrado ser el mejor hiperacumulador conocido para el cadmio, el zinc, el plomo y cobre, llegando a extraer en una sola generación hasta el 50% de todo el cadmio existente en el suelo (Wangensteen, 2002).

En México, la fitorremediación se está abriendo paso cada día, en el Norte del País se aplica en las minas, como la de Mocerito en el Estado de Sinaloa, Guanajuato, Hidalgo, Zacatecas, San Luis Potosí. Su posible aplicación en la descontaminación de suelos y agua principalmente de hidrocarburos en los Estados de Veracruz, Campeche, Tabasco, Tamaulipas. Aunque se desconocen en México trabajos en donde se utilice esta técnica en la eliminación del exceso de sales, en países como España, Holanda, Bélgica, Chile, Brasil y Estados Unidos son usuales en los sistemas de producción orgánica.

Como una nueva área de oportunidad, surge la posibilidad de absorción, acumulación, estabilización de los nanocristales en los sitios de acumulación, o incorporarlos en plantas, en condiciones de crecimiento que hagan óptima la tasa de recuperación, así como los procesos involucrados con el aislamiento y purificación de las nanopartículas metálicas.

Actualmente existen muchas aplicaciones de las nanopartículas metálicas abriéndose aún nuevas posibilidades de uso, por las excelentes propiedades que poseen estos nuevos compuestos químicos. Entre las áreas que se aplican actualmente están:

a. Medicina

- Gasas para quemaduras serias o heridas crónicas, desarrolladas y creadas por la compañía canadiense Weistmer contienen nanopartículas de plata. La plata es un bactericida natural, que en forma de nanopartículas incrementa el área superficial mejorando la eficiencia antibacterial contra 150 tipos de microbios, incluyendo los resistentes a drogas. Actualmente se utilizan en más de 100 de los 120 hospitales para las personas quemadas en los Estados Unidos (Ratner y Ratner, 2002).
- Adhesivo dental de 3M. “Adper Single Bond Plus Adhesive”, adhesivo con nanopartículas de silicio para formar uniones más fuertes con el esmalte y las coronas para la restauración

dental, endodoncias o incrustaciones de porcelana. Pronto saldrá al mercado la pasta de dientes con nanohidroxiapatita, material utilizado para la regeneración de los hueso y para la cirugía periodontal (Ratner y Ratner, 2002).

- Utilización de nanopartículas de oro para la detección de los niveles de glucosa (Ratner y Ratner, 2002).
- Una aplicación biomédica de las nanopartículas de oro, estimuladas con la frecuencia correcta de luz láser (termólisis), podrían ser en la generación del calor necesario para afectar a un solo objeto, como por ejemplo una célula tumoral (SC, 2003).
- Un biosensor hecho con nanopartículas de platino podría permitir a los médicos combatir la diabetes con mayor eficacia que antes. El sensor, que es capaz de detectar la glucosa con mucha más eficacia que la tecnología existente, ha sido desarrollado por un equipo de investigadores de la Universidad de Arkansas (UA), quienes descubrieron que los nanotubos recubiertos con nanopartículas de platino son mucho más sensibles que los nanotubos estándar (EURS, 2007).

b. Uso doméstico

- Lavadoras y refrigeradores creados por Samsung, con nanopartículas de plata presentan un efecto antimicrobiano (Ratner y Ratner, 2002).

c. Cuidados personales

- Great American Knitting Mills, Inc. (New York city), Guoxin Hosiery series y fibra antibacterial (Hyosung de korea del Sur) desarrollaron textiles con nanopartículas de plata para la elaboración de calcetines y otros productos de vestir (Mpan NanoMagic Silver), 99.9% efectivas para prevenir infecciones como pie de atleta y otras causadas por *Pneumobacilo*, *Colon bacili* y hongos (ANSONANO, 2003).

d. Protección ambiental

- Adición de nanopartículas de dióxido de titanio en las banquetas o en las pinturas de las casas para que en presencia de luz, se descompongan los contaminantes atmosféricos (Ratner y Ratner, 2002).
- En la Universidad de Missouri-Columbia y Baolin Deng, estudian los efectos de las nanopartículas de plata sobre la salud y el medioambiente; concretamente, sus posibles efectos en los sistemas de tratamientos de aguas residuales (EURS, 2007).
- Argonide Nanomaterials, una fábrica de nanopartículas metálicas y productos de nanofiltración con base en Orlando, hace un filtro que es capaz de detener las partículas más pequeñas. Su desempeño se debe a un enmallado de nanopartículas de aluminio, que atraen y retienen nanopartículas y partículas submicrónicas. Este filtro desechable retiene el 99.9999% de los virus en un flujo de agua, una proporción cientos de veces mayor que una membrana ultra porosa antiviral (DEI, 2003).
- El uso de las nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos y antimicóticos en la agricultura, tanto en fase de producción y postcosecha.

e. Electrónica

- Empleo de nanopartículas metálicas para la fabricación de memorias y nanotransistores (Ratner y Ratner, 2002).
- Empleo de nanopartículas de óxido de zinc como material conductor de voz y datos (UNESCO, 2007).

f. Ingeniería

- Argonide ha creado propulsores de cohetes que se queman más rápidamente, usando nanopartículas de aluminio. También producen nanopartículas de cobre que son incorporadas en los lubricantes automotrices para reducir el desgaste del motor (DEI, 2003).
- Partículas de plata como agentes antimicrobianos las cuales no presentan el problema de descomposición a las altas temperaturas de extrusión de los plásticos. Es así que los compuestos antimicrobianos a base de plata, han sido incorporados en materiales para el envasado de alimentos (Páez, 2007).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En los últimos años la fitorremediación ha ido ganando aceptación como tecnología, y ha supuesto un notable desarrollo en el conocimiento de los mecanismos de absorción, transporte y detoxificación en las plantas. Los estudios realizados hasta la fecha con esta técnica, muestran que las labores sucesivas de limpieza han mejorado notablemente la situación de la zona afectada. En la actualidad, ninguna especie es capaz, por sí sola y en una única cosecha, de eliminar completamente el contaminante del suelo afectado, sino que serían necesarias varias cosechas sucesivas para devolver al suelo sus condiciones originales. No obstante y aun utilizando todas estas técnicas de fitorremediación, puede llegar a quedar una contaminación remanente que seguirá presente en diversas comunidades de organismo especialmente en aquellas que habitaban la zona afectada. Hoy en día, es esencial acometer con urgencia la remediación de los suelos contaminados para así garantizar la sustentabilidad que nos provee el ecosistema suelo.

Por otra parte aprovechar que las plantas pueden ser utilizadas como bombas extractoras de bajo costo y así obtener nanopartículas metálicas a precios más accesibles. Pretendiendo en un futuro no muy lejano buscar apoyos o financiamientos para emprender de manera comercial la producción biológica de estos materiales.

5.2 Recomendaciones

En México pocos investigadores se han concentrado en desarrollar esta línea de investigación, son tan escasos los recursos y pequeños los apoyos que las empresas, centros de investigación y universidades, tienen que solventar gran parte de las investigaciones por su cuenta.

Este tipo de técnica tiene gran futuro en nuestro país ya que puede utilizarse junto con otras técnicas de biorremediación para la eliminación de los hidrocarburos en suelos y aguas contaminadas, en las zonas de procesado de crudo como los Estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Tamaulipas, así como para la limpieza de los residuos de minas y de la industria

metalúrgica en los Estados de Zacatecas, Guanajuato, Hidalgo, Edo. de México, Coahuila, Nuevo León.

Es fundamental avanzar en el estudio de estos procesos para lograr un mejor desarrollo de estas técnicas, creando centros especializados que se dediquen al perfeccionamiento y desarrollo de la fitorremediación, buscando fuentes de ingreso o financiamiento de empresas, gobiernos y particulares que tengan una fuerte conciencia ecológica.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adriano, D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. *Springer- Verlag*. New York. United States of America.
- Anderson, J. W. y Beardall, J. 1991. Molecular activities of plants cells. *Blackwell Scientific Publications*. P 385. Oxford United Kingdom.
- Anderson, T. A. y Coast, J. R. 1994. Bioremediation through rhizosphere technology. ACS Symposium Series No. 563. *American Chemical Society*. Washington, DC. United States of America.
- Angle, J. S.; Chaney, R. L.; Baker, A. J. M.; Li, Y.; Reeves, R.; Volk, V.; Roseberg, R.; Brewer, E.; Burke, S.; Nelkin, J. 2001. Developing commercial phytoextraction technologies: Practical Considerations. *S. Afr. J. Sci.*, 97: 619-623.
- Azcon-Bieto, J.; Talon, M. 2001. Fundamentos de fisiología vegetal. Ed. McGraw Hill interamericana.
- Barcelo, J.; Sabater, B.; Nicolas, G.; Sánchez R. 1997. Fisiología vegetal. Ed. Piramide, Madrid. España.
- Becerril, J. M.; Barrutia O.; García Plazaola J. I.; Hernández A.; Olano J. M.; Garbisu C. 2007. Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Revista Ecosistemas*. 2007/2. España.
- Bernal, M. P.; Clemente R.; Vázquez S.; Walker D. J. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Revista Ecosistemas*. 2007/2, 68-82. España.

- Boyd, R. S.; Martens, S. N. 1998. The significance of metal hyperaccumulation for biotic interactions. *Chemoecology* 8: 1-7.
- Brennan, M. A.; Shelly, M. L. 1999. A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction. *Ecological Engineering*. 12:271 – 297.
- Brooks, R. R. J.; Lee, R. D.; Reeves, T.; Jaffre.. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J. Geochem. Explor.* 7:49-57.
- Brooks, R. R. (ed.) 1998. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals - Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archeology, Mineral Exploration and Phytomining. CAB International, New York, NY. United States of America.
- Brown, S. L.; Angle, J. S.; Chaney, R. L.; Baker, A. J. M. 1995. 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.* 29: 1581-1585.
- Brown, G. E. (Jr.); Foster, A. L.; Ostergren, J. D. 1999. Mineral surfaces and Bioavailability of Heavy Metals: A Molecular-scale Perspective. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 3388-3395.
- Chaney, R. L.; Malik, M.; Li, Y. M.; Brown, S. L.; Brewer, E. P.; Angle, J. S.; Baker, A. J. M. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology.* 8:279 – 284.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W. 1995. Phytoremediation of contaminated soils and sediments. En: *Bioremediation: Science and Applications* (eds. Skipper, H.D. y Turco, R.F.), pp. 145-56, Soil Sci. Soc. Am., Madison,
- Cunningham, S. D.; Berti, W. R.; Huang, J. W. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnol.* 13:393 – 397.

- Dorronso, C. 2001. Degradación del suelo. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada, España.
- Fernández, J. A. y Maldonado, J. M. 2000. Absorción y transporte de nutrientes minerales. En azcón-Bieto, J; Talón, M. (coordinadores). Fundamentos de Fisiología Vegetal. P. 109. McGraw-Hill/Interamericana. Barcelona, España.
- Furno F. *et al.*, 2004. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 54 (6).
- Garbisu, C. y Alkorta, I. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. Review paper. *Bioresource Technol* 77: 229 – 236.
- Garbisu C.; Becerril J. M.; Epelde L.; Alkorta I. 2007. Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador. *Revista Ecosistemas*. España.
- García, I. y Dorronsoro, C. 2001. Contaminación por metales pesados. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada, España.
- Gardea-Torresdey, J.; Hejazi, M.; Tiemann, K.; Parson, J. G.; Duarte-Gardea, M.; Henning, J. 2002. Use of hop (*Humulus lupulus*) agricultural by-products for the reduction of aqueous lead (II) environmental health hazards. *Journal Hazardous Materials*. B91: 95 – 112.
- Guerra Sanz, J. M. 1999. Ingeniería genética en horticultura. Junta de Andalucía: Consejería de agricultura y pesca. España.
- Gisbert, C.; Ros, R. De Haro A.; Walker, D. J.; Bernal, M. P.; Serrano, R.; Navarro – Aviño, J. 2003. A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem Biophys Research Communications*. 303:440 – 445.

- Henry, J. R. 2000. An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury. National Network of Environmental Management Studies (NNEMS) U. S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation office Washington, D.C. United States of America.
- Kärenlampi, S.; Schat, H.; Vangronsveld, J. A. C.; Verkleij, D, Van Der L.; Mergeay, M.; Tervahautta, A. I. 2000. *Environ pollution*. 107:225 – 231.
- Kelly, C.; Gaither, K. K.; Baca-Spry, A.; Cruickshank, B. J. 2000. Incorporation of Phytoremediation strategies into the Introduction Chemistry Laboratory. *Chem. Educador*. 5:140 – 143.
- Kidd P. S.; Becerra Castro C.; García Lestón M.; Monterroso C. 2007. Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Revista Ecosistemas*. 2007/2. España.
- Kim, S.; Ma, H.; Allen, H.; Cha, D. 2002. Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: effect of complexation kinetics. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21 : 275-280.
- Klaus, T. R.; Joeger, E.; Olsson, C. G. 1999. silver-based crysralline nanoparticules microbiolly fabricated. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 96: 14183 – 14185 United States of America.
- Klue, U.; Warner, S.; *Et al.*, 2000. *Journal Biomed. Maters*. Res, 53,621.
- Kochian, L. V. 1995. Phytoremediation of metal polluted soils: from the laboratory to the field. pp. 35-36. *In Proceedings/Abstracts of the Fourteenth Annual Symposium, Current Topics in Plant Biochemistry, Physiology, and Molecular Biology - Will Plants Have a Role in Bioremediation?*, April 19-22, 1995, Columbia, MO.

- Interdisciplinary Plant Group, University of Missouri, Columbia, MO. United States of America.
- Korcak, R. F. y Fanning, D. S. 1985. Availability of applied heavy metals as a function of type of soil material and metal source. *Soil Sci.* 140: 23-34.
- Krishnamurti, G. S. R. y Naidu, R. 2000. Speciation and phytoavailability of cadmium in selected surface soils of South Australia. *Australian Journal of Soil Research.* 38(5), 991-1004.
- Lasat, M. M. 202. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal Environ Qual.* 31:109 – 120.
- Li, Y. M.; Chaney, R. L.; Brewer, E. P.; Angle, J. S.; Nelkin, J. 2003. Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator Alyssum species grown on nickel-contaminated soils. *Environ. Sci. & Technol.* 37: 1463-1468.
- Lombi, E.; Wenzel, W. W.; Gobran, G. R.; Adriano, D. C. 2001. Dependency of phytoavailability of metals on indigenous and induced rhizosphere processes: a review. En: *Trace elements in the rhizosphere.* (eds Gobran, G.R., Wenzel, W.W. y Lombi, E.), pp. 3-24, CRC Press, Boca Raton, Florida. United States of America.
- Lovley, D. R. 2000. Environmental Microbe-Metal Interactions, American Society for Microbiology, Washington D.C. United States of America.
- Lussier, S.; Boothmen, W. S.; Poucher, S.; Champlin, D.; Helmstetten, A. 1999. Comparison of Dissolved and Total Metals Concentrations from Acute Tests with Saltwater Organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 18 : 889-898.
- Llugany, M.; Tolrá, R.; Poschnrieder, C.; Barceló, J. 2007. hiperacumulación de metales: ¿ una ventaja para la planta y para el hombre?. *Revista Ecosistemas.* 2007/2.

- Madigan; Martinko; Parker. 1997. *Biología de los microorganismos*. Ed. Prentice Hall Iberia, Madrid. España.
- Maiti, R. K.; Hernández Piñero, J. L.; Verde Star, J.; García Díaz, G.; Nuñez González, A.; Cárdenas-Avila, M. L.; Foroughbakhch, R. 2002. Potential use of *Phaseolus vulgaris* L., *Avena sativa* L. and *Medicago sativa* L. in the removal of lead and cadmium from soils, *Crop Res.* 24 (3) : 449-452.
- Manson, R. y Lawrence, A. 1999. Concentration, Distribution, and Bioavailability of Mercury and Methylmercury in Sediments of Baltimore Harbor and Chesapeake Bay, Maryland, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 18 : 2438-2447.
- Maqueda, A.P. 2003. Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Tesis de Opción a Maestría en Biotecnología. Departamento de Química y Biología, Universidad de las Américas, Cholula, Puebla. México.
- Marmioli, N. y Monciardini, P. 1999 PHYTONET, a thematic network devoted to scientific, economical, environmental and social aspects of phytoremediation. *Int. J. Phytoremediat.* 1: 125-138.
- Marmioli, M.; Antonioli, G.; Maestri, E.; Marmioli, N. 2005. Evidence of the involvement of plant lingo-cellulosic structure in the sequestration of Pb: an X-ray spectroscopy-based analysis. *Environ. Pollut.* 134:217 – 227.
- McGrath, S. P.; Shen, Z. G.; Zhao, F. J. 1997. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant Soil.* 188: 153-159.
- McGrath, S. P.; Zhao, F.J.; Lombi, E. 2002. Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. En: *Adv. Agron.* 75: 1-56.

- McIntyre, T. 2003. Phytoremediation of heavy metals from soils. *Adv Biochem. Engin Biotechnol.* 78:97 – 120.
- Medina, R. J. A.; Vallejo, A. S. A.; Rocha, J. M. 2001. Elementos a considerar para integrar las bases de política para la prevención de la contaminación del suelo y su remediación. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. P7 ediciones, 65 P. México
- Mejáre, M. y Bülow, L. 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trend Biotechnol.* 19(2):67 – 73.
- Mulligan, C. N.; Young, R. N.; Gibbs, B. F. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evolution. *Engineer Geol.* 60:193 – 207.
- Navarro-Aviño, J. A. P.; Aguilar, I. A.; López, J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Ecosistemas.* España.
- Nedelkoska, T. V. y Doran, P. M. 2000. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potencial for phytoremediation and phytomining. *Minerals engineer.* 13(5):549 – 561.
- Páez, H. C. 2007. Estudio del Efecto de Nanoparticulas de Plata sobre las Características Antimicrobianas de una Película Plástica para Empaque de Alimentos. Tesis Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.
- Pollar, A. J.; Dandridge, K. L.; Shee, E. M. 2000. Ecological genetics and the evolutions of trace elements hyperaccumulations in plants. In: N, Terry.; Bañuelos, G (Eds). *Phytoremediations of contaminated soils and waters.* CRC press LLC, P. 251 – 264. Boca Ratón, Florida, United States of América.

- Porta, C. J.; López – Acevedo, R. M.; Roquero, de L. C. 1994. Edafología: para la agricultura y el medio ambiente. Mundi – Prensa, 807 P. España.
- Poschenrieder, C.; Tolrá, R.; Barceló. 2006. Can metals defend plants against biotic stress? *Trends in Plant Science* 11: 288-295.
- Puschenreiter, M.; Wiczorek, S.; Horak, O.; Wenzel, W.W. 2003. Chemical changes in the rhizosphere of metal hyperaccumulator and excluder *Thlaspi* species. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*. 166: 579-584.
- Raskin, I.; Smith, R. D.; Salt, D. E. 1997. Phytoremediation of metals using plants to remove pollutants from the environment. *Curr Opin Biotechnol*. 8:211 – 226.
- Raskin, I. y Ensley, B. D. 2000. Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment. USA. John Wiley & Sons, Inc. 304 P.
- Ratner, M y Ratner, D. 2002. Nanotechnology: a gentle introduction to the next big idea. Prentice Hall.
- Robinson, B. H., Chiarucci, A.; Brooks, R. R.; Petit, D.; Kirkman, J. H.; Gregg, P. E. H.; DeDominicis, V. 1997. The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potential agent for phytoremediation and phytomining of nickel. *J. Geochem. Exploration* 59: 75-86.
- Salt, D. E.; Smith, R. D.; Raskin, I. 1998. Phytoremediation. *Annu Rev plant Physiol Plant Mol Biol*. 49:643 – 668.
- Seoane, C. M. 1999. Contaminación del suelo: estudios, tratamiento y gestión. Mundi-Prensa. 352 P. España.

- Shankar, S. S.; Ahmad, A.; Sastry, M. 2003. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol.* 19: 1621-1631.
- Shaw, A. 1990. Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. CRC Press, Boca raton, Florida. United States of America
- Susarla, S.; Medina, V. F.; McCutcheon, S. C. 2002. Phytoremediation: na ecological solution to organic chemical sontamination. *Ecological Engineering.* 18:647 – 658.
- US, EPA. 1997. Engineering Bulletin: Alternatives for the remediation of soils contaminated with As, Cd, Cr, Hg and Pb, EPA/ EPA/540/S-97/500. Cincinnati, OH; US Environmental Protection Agency, Office of Reach and Development. United States of America.
- US, EPA. 2003 a. Guia para el ciudadano sobre cobertura documento EPA No. 542-F-01-022S, U.S. Environmental Protecion Agency office Of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C. United States of America.
- US, EPA. 2003 b. Guia para el ciudadano sobre cobertura documento EPA No. 542-F-01-011S, U.S. Environmental Protecion Agency office Of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C. United States of America.
- US, EPA. 2003 c. Guia para el ciudadano sobre cobertura documento EPA No. 542-F-01-017S, U.S. Environmental Protecion Agency office Of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C. United States of America.
- Vanek T. y Schwitzguebel, J. P. 2003. Phytoremediation inventory - COST 837 view. COST Action 837 Plant biotechnology for the removal of organic pollutants and toxic metals from wastewaters and contaminated soils. Praga,

- Vázquez, M. D. 2003. Uso de especies vegetales para controlar ambientes contaminados. Profesora del Departamento de Biología Animal, Vegetal y Ecología, Unidad de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- Wang, A. S.; Angle, J. S.; Chaney, R. L.; Delorme, T. A.; Reeves, R. D. 2006. Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 281: 325-33.
- Wangensteen, O. 2002. Plantas que lo chupan todo. Ciencia Digital.
- Wenzel, W. W.; Bunkowski, M.; Puschenreiter, M.; Horak, O. 2003. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil. *Environ. Poll.* 123: 131-138.
- Whitting, S. N.; Neumann, P. M.; Baker, A. J. M. 2003. Nickel and Zinc hyperaccumulation by *Alisum murale* and *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae) do not enhance survival and whole-plant growth under drought stress. *Plant, Cell Environ.* 26:351 – 360.
- Wong, M. H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere.* 50: 775-780.

6. 1 Páginas de Internet revisadas

- ANSONANO, 2003. Healt Science with Anso. (visitado el 20 de julio de 2007)
<http://www.ansonano.com/english/products/socks.asp>
- ArgenBio, 2003. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Argentina. (Visitado el 7 de mayo de 2007).
<http://www.argenbio.org/h/biotecnologia/24.php>
- DEI, 2003. Departamento de Electrónica e Informática. (visitado el 28 de Julio de 2007)
http://www.dei.uc.edu.py/tai2003-2/nanotecnologia/nano/usos_actuales.htm

- EURS, 2007 El primer portal europeo en España (visitado el 28 de Julio de 2007)
<http://www.euroresidentes.com/Blogs/noticias-nano/labels/nanoparticulas.html>
- INE, 2005. Instituto Nacional de Ecología. Capítulo 4, tecnologías de remediación para suelos contaminados por EPT. México. (Visitado el 9 de Mayo de 2007).
<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/459/cap4.html>
- PQB, 2003. El portal de la Biotecnología en Español. Argentina. (Visitado el 15 de junio de 2007).
http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_36.asp?cuaderno=36
- SC, 2003. El Portal de la Ciencia y la Tecnología en Español. (visitado el 28 de Julio de 2007)
<http://www.solociencia.com/quimica/06071301.htm>
- UAH, 2006. Universidad de Alcalá. Química Ambiental, Tema 21. Biorrestauración. Responsable M. C. Tejedor. Departamento de Bioquímica. España. (Visitado el 15 de Junio de 2007).
http://www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica_ambiental/biorremediacion.htm
- UCLM, 2007. Universidad de Castilla – La Mancha. Mineralogía y Geoquímica Ambiental, Tema 4, Prospección Geoquímica. Responsables: Higeras, P; Oyarzun, R. Departamento de Ingeniería Geológica y Minera. España. (Visitado el 19 de Mayo de 2007).
http://www.uclm.es/users/higueras/MGA/Tema04/Prospeccion_geoquimica_2.htm
- UITA, 2007. Unificando los trabajadores agroalimentarios y de hostelería en todo el mundo. “Las Naciones Unidas reconocen pero tropiezan respecto a los riesgos de la nanotecnología para la salud y el medio ambiente”. Rampe du Pont-Rouge, 8, CH-1213, Petit-Lancy, Suecia. (Visitado el 2 de julio de 2007).
<http://www.iuf.org/www/es/>

UNESCO, 2003. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la ciencia y la cultura. (visitado el 28 de Julio de 2007)

<http://www.unesco.org.uy/educacion/pedeciba200/PosterMarcelaBallesta.pdf>

NOMENCLATURA

- Antrópica.- Proviene de una palabra griega que significa “ser humano” y se refiere a todo lo elaborado o hecho por el hombre.
- Antropogénica.- Se define como toda actividad realizada por el hombre.
- Compartimentar.- Separar o dividir en compartimentos.
- Compartimentalización.- En Fisiología es sinónimo de acumulación o asimilación, conjunto de procesos metabólicos en que se sintetizan sustancias complejas a partir de otras mas simples.
- Eflujo.- Se define como el bombeo de los iones al exterior de la célula
- Trófica.- Se define como la cadena formada por el conjunto de seres que van alimentándose sucesivamente unos de otros, ejemplo los vegetales, herbívoros y carnívoros.