

**CAPACIDAD DEL GUARUMO (*Cecropia peltata*) COMO PLANTA  
FITORREMIADORA DE SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO**

**JHON VICTOR VIDAL DURANGO**

**SISTEMA DE UNIVERSIDADES ESTATALES DEL CARIBE COLOMBIANO SUE-  
CARIBE**

**MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**LÍNEA DE MEDIO AMBIENTE, SALUD Y CULTURA**

**SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

**2009**

**CAPACIDAD DEL GUARUMO (*Cecropia peltata*) COMO PLANTA  
FITORREMIADORA DE SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO**

**JHON VICTOR VIDAL DURANGO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Magíster en  
Ciencias Ambientales**

---

**BEATRIZ JARAMILLO COLORADO, Ph. D**

**Director de Tesis**

**SISTEMA DE UNIVERSIDADES ESTATALES DEL CARIBE COLOMBIANO SUE-  
CARIBE**

**MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**LÍNEA DE MEDIO AMBIENTE, SALUD Y CULTURA**

**SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

**2009**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

---

**Firma del presidente del jurado**

---

**Firma de jurado**

---

**Firma de jurado**

---

**Firma de jurado**

**Cartagena, DT y C, Mayo 18 de 2009**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco de manera especial al químico José Joaquín Pinedo por toda su colaboración en cuanto a la realización de los análisis de mercurio en las diferentes matrices ambientales empleadas en este estudio, destacando su disponibilidad, celeridad y muchas veces paciencia, en sabiendas de las diversas dificultades presentadas en las distintas fases de la investigación. Asimismo, agradezco a los estudiantes de Biología con énfasis en Biotecnología Hiver Perez y Jhon Anaya, por su entrega, capacidad de trabajo y minuciosidad demostrada en las actividades realizadas en conjunto, lo que conlleva a obtener resultados confiables y de gran valor científico.

Agradezco a la Bióloga Libia Perez Castro y al Ingeniero Civil Luis Dominguez, por su entereza, sentido de colaboración e incondicionalidad para desarrollar en conjunto las duras fases de campo y plasmar en los mapas las características de la zona de estudio y sus perfiles de contaminación. También reitero mis agradecimientos al Biólogo Giovanni Montes por su colaboración en la clasificación de la especie, así como en la contextualización acerca de la misma.

Agradezco a mi directora Beatriz Jaramillo por poner su capacidad académica en función de la causa de esta maravillosa línea de trabajo, pero en especial por su interés y preocupación continua sobre el desarrollo de las actividades planeadas en esta investigación. También aprovecho para agradecerle a la Universidad de Córdoba por su gran respaldo en el aspecto analítico y a la Universidad de Sucre por brindarnos la oportunidad de estudiar manteniendo la carga laboral que nos permitiera subsanar los costos de la maestría.

Finalmente, agradezco a mis compañeros de estudio por brindar espacios de debate que permitieran el enriquecimiento de la propuesta y la fundamentación de las discusiones de los resultados; así como a mi familia por apoyarme incondicionalmente en el tiempo de desarrollo de este proyecto de grado. A todos Muchas gracias.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mí querida madre Maria Durango y a mi viejo Miguel Mendez; a mi compañera de mil batallas Yeimy Florez y a nuestro fruto Natalia Vidal; a mis hermanos Luz Dary, Walter, Norelis y Tomás, así como mis adorados sobrinos. Para todos ellos pido bendiciones y que Dios derrame sobre ellos paz y prosperidad, como lo ha hecho conmigo el día de hoy.

Gracias

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ANEXOS.....	vi
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	4
2.1 GENERALIDADES DEL MERCURIO (Hg).....	4
2.1.1 Características físicas y químicas del mercurio.....	4
2.1.2 Fuentes de Contaminación.....	5
2.1.3 Minería y mercurio en el orden mundial y nacional.....	6
2.1.5 Mercurio y salud humana.....	7
2.1.6 Transporte y distribución ambiental.....	8
2.1.7 Mercurio en el suelo.....	9
2.2. FITORREMEDIACIÓN.....	11
2.2.1 Técnicas de remediación de suelos contaminados con mercurio y fitorremediación.....	11
2.2.2 Ventajas y limitaciones de la fitorremediación.....	12
2.2.3 Procesos de fitorremediación.....	13

2.2.4 Plantas hiperacumuladoras.....	13
2.2.5 <i>Cecropia peltata</i> .....	15
2.2.6 Fitotoxicidad del mercurio.....	16
2.2.7 Actividad de la rizósfera.....	16
2.2.8 Mecanismos en el interior de la planta.....	18
2.2.9 Incremento de la capacidad de acumulación de Hg.....	20
2.2.9.1 Empleo de sustancias quelantes.....	20
2.2.9.2 Empleo de especies modificadas genéticamente.....	21
3. OBJETIVOS.....	23
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
4.1 CAPACIDAD ACUMULADORA DEL GUARUMO EN CAMPO.....	24
4.2 DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL GUARUMO ( <i>Cecropia peltata</i> ) COMO PLANTA ACUMULADORA DEMERCURIO.....	25
4.3 RENDIMIENTO DE LA CAPACIDAD FITORREMEIADORA DE Hg DEL GUARUMO.....	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE STUDIO.....	28
5.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS DE ESTUDIO.....	32
5.2 ACUMULACIÓN DE Hg EN TEJIDOS.....	33
5.3 CINÉTICA DE ACUMULACIÓN.....	41
5.4 CAPACIDAD REMEDIADORA.....	48
6. CONCLUSIONES.....	51
7. RECOMENDACIONES.....	52

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
------------------------------------	----

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Diseño experimental para la determinación comportamiento del guarumo ( <i>Cecropia peltata</i> ) como planta acumuladora de mercurio.	Pág. 25
<b>Tabla 2.</b>	Características de los suelos recolectados	Pág.32
<b>Tabla 3.</b>	Hg Total (ng/g) en diferentes partes de la planta sin emplear ácido cítrico como agente quelante	Pág.34
<b>Tabla 4.</b>	Hg Total (ng/g) en diferentes partes de la planta empleando ácido cítrico como agente quelante.	Pág.34
<b>Tabla 5.</b>	Concentración de Hg T en raíces, tallos y hojas de árboles de guarumo establecidas en la zona de estudio	Pág.35
<b>Tabla 6.</b>	Análisis de varianza para la concentración de Hg total en raíces	Pág.38
<b>Tabla 7.</b>	Análisis de varianza para la concentración de Hg total en hojas	Pág.38
<b>Tabla 8.</b>	Análisis de varianza para la concentración de Hg total en tallos	Pág.38
<b>Tabla 9.</b>	Concentración de Hg total en raíces y en suelo de la rizósfera	Pág.40
<b>Tabla 10.</b>	Concentración de mercurio ( ng Hg T/g) y altura de arboles establecidos en la zona de estudio	Pág.44
<b>Tabla 11.</b>	Capacidad remediadora de Hg T de <i>Cecropia Peltata</i>	Pág.48
<b>Tabla 12.</b>	Porcentaje de mercurio biodisponible en los suelos contaminados	Pág.48
<b>Tabla 13.</b>	Análisis de varianza para la concentración de Hg total en suelos	Pág.49
<b>Tabla 14.</b>	Análisis factorial para el porcentaje de Hg biodisponible	Pág.50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 4.</b>	Estructura general de las fitoquelatinas	Pág. 19
<b>Figura 1.</b>	Mapa de Subzonas del sector de estudio	Pág. 29
<b>Figura 2.</b>	Mapa de corrientes mixtas (aguas domesticas y de lavado de las rocas) y de corrientes de amalgamación (Aguas que salen de los molinos donde de amalgama el mercurio con oro)	Pág.30
<b>Figura 3.</b>	Mapa de niveles de concentración de Hg en suelos de Mina Santa Cruz	Pág.31
<b>Figura 5.</b>	a) Lugar de muestra del suelo menos contaminado b) Lugar de muestra del suelo más Contaminado	Pág.32
<b>Figura 6.</b>	Correlación entre la concentración de Hg Total entre raíces y hojas	Pág.35
<b>Figura 7.</b>	Relación entre la concentración de Hg Total entre raíces y tallos	Pág.36
<b>Figura 8.</b>	Comparación de la concentración de Hg T en raíces de guarumos desarrollados en suelos de diferente grado de contaminación	Pág.39
<b>Figura 9.</b>	Correlación entre la concentración de Hg T en raíces de guarumo y el grado de contaminación del suelos de sus rizósferas en campo	Pág.41
<b>Figura 10.</b>	Cinética de acumulación en raíces	Pág.42
<b>Figura 11.</b>	Cinética de acumulación en hojas	Pág.43
<b>Figura 12.</b>	Cinética de acumulación en tallos	Pág.43
<b>Figura 13.</b>	Correlación entre altura de árboles y concentración de mercurio (ng Hg T/g) en raíces.	Pág.45
<b>Figura 14.</b>	Sitios de tomas de muestras de árboles de guarumo en relación a las corrientes mixtas y de amalgamación	Pág.46
<b>Figura 15.</b>	Sitios de tomas de muestras de árboles de guarumo en relación los niveles de concentración de Hg en suelo	Pág.47

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA POR EL HERBARIO NACIONAL DE COLOMBIA.....	61
ANEXO 2. ZONA DE EXPLOTACIÓN.....	62
ANEXO 3. ZONA URBANA.....	63
ANEXO 4. ZONA DE ESCORRENTIAS.....	64
ANEXO 5. CORRIENTES MIXTAS.....	65
ANEXO 6. CORRIENTES DE AMALGAMACIÓN.....	66
ANEXO 7.	

## RESUMEN

La fitorremediación consiste en el empleo de plantas y sus microorganismos asociados para remover, transferir, estabilizar y/o degradar contaminantes en suelo, sedimentos y agua. Para evaluar la capacidad de *Cecropia peltata* como planta fitorremediadora de suelos contaminados en el Sur de Bolívar, se tomaron inicialmente 15 árboles de diferente altura establecidos en la zona y se les determinó la concentración de Hg en raíces, tallos y hojas, así como del suelo presente en límites de sus rizósferas, mediante espectrofotometría de absorción atómica. Posteriormente se trabajó en condiciones controladas, usando un diseño factorial con variable dependiente la concentración de mercurio en tejidos y como variables independientes: el grado de contaminación del suelo, la aplicación de un agente quelante y el tiempo de crecimiento de la planta. Los resultados indicaron que la parte de la planta que presenta mayor acumulación es la raíz y que su concentración esta relacionada con el grado de contaminación del suelo; sin embargo la aplicación de ácido cítrico como agente quelante no generó mayores tasas de acumulación, ni remoción del contaminante del suelo. También se destaca que la cinética de acumulación en tallos y raíces disminuyó con el tiempo debido al incremento de biomasa, mientras que en la raíz aumentó por la retención del contaminante en su epidermis, posiblemente como acción de defensa toxica para evitar efectos nocivos en partes superiores de la planta. En conclusión, esta especie se puede considerar como una planta acumuladora de Hg por las altas concentraciones encontradas en sus tejidos en campo y de forma experimental sin presentar efectos fitotóxicos considerables.

## ABSTRACT

The phytoremediation is the use of plants and their associated microorganisms to remove, transfer, stabilize and / or degrade contaminants in soil, sediment and water.. To assess the ability of *Cecropia peltata* as phytoremediate plant contaminated soils in southern Bolivar, 15 trees were collected from different heights in the area and determined the concentration of Hg in roots, stems and leaves, as well as in soil limits its rhizosphere. Subsequently worked under controlled conditions, using a factorial design with variable concentrations of mercury in tissues and as independent variables: the level of soil contamination, the application of a chelating agent and the time of plant growth. The results indicated that the plant part that is more accumulation is the root and that its concentration is related to the degree of soil contamination, However, the application of citric acid as a chelating agent did not generate higher rates of accumulation or removal of the contaminant from the soil. Moreover, the kinetics of accumulation in stems and roots decreased with time due to increased biomass, while in the root increased by the retention of the contaminant in the skin, such as defensive action to avoid toxic adverse effects on parts of the plant. In conclusion, this species can be considered as an accumulator plant for the high Hg concentrations found in their tissues without significant phytotoxic effects.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados como el arsénico, plomo, cadmio, cobre, selenio y mercurio son un problema creciente de contaminación ambiental a nivel mundial; estos contaminantes pueden encontrarse en el aire, agua y suelo, y a diferencia de los compuestos orgánicos, estos no pueden ser biodegradados, razón por lo cual las concentraciones en los compartimientos ambientales aumentan continuamente; además pueden acumularse en plantas, pasar luego a los animales y finalmente a los seres humanos [1]. De estos contaminantes uno de los más estudiados es el mercurio debido a su alta toxicidad y puede llegar a los suelos a través de fuentes naturales y antropogénicas, entre las cuales esta la actividad minera [2].

Para remediar suelos contaminados con mercurio se han diseñado técnicas físicas de tratamiento como la excavación, fijación y lixiviación, pero presentan costos elevados y además contribuyen con el deterioro del sitio tratado [3], en contraste existen plantas que naturalmente pueden establecerse en medios contaminados con metales pesados y acumularlos en sus tejidos; esta propiedad se viene aprovechando en una técnica llamada fitorremediación, que es la utilización de plantas para remover, acumular e inactivar estos contaminantes [4]; además es considerada amigable con el ambiente y de bajo costo para remediar suelos contaminados *in situ*. Sin embargo, la mayoría de los estudios de capacidad fitorremediadora y proyectos de intervención, se han realizado en países estacionales, empleando flora típica de estas zonas geográficas, siendo muy poca la información obtenida en plantas originarias de regiones tropicales.

Los pastos son el género más adecuado para la fitorremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su rápido crecimiento y adaptación a una variedad de condiciones edáficas y climáticas [1]. Sin embargo, también se pueden emplear especies maderables debido al alto potencial de acumulación y por su gran masa vegetal, además se pueden utilizar para fitorremediar y reforestar zonas erosionadas con historial minero, donde se desarrollan pocas plantas debido a la alta toxicidad generada por estos contaminantes [4].

El mercurio en el suelo se encuentra fuertemente asociado a la materia orgánica (MO), especialmente a los grupos  $\text{SH}^-$  contenidos en ésta, de igual forma con los ligandos  $\text{OH}^-$  y  $\text{Cl}^-$  y los minerales arcillosos [6], por lo tanto la captación por parte de las raíces de las plantas depende de su disponibilidad en el suelo, que se encuentra determinada por factores fisicoquímicos como temperatura, humedad, pH, permeabilidad y presencia de aceptores de electrones [7]. Para aumentar la disponibilidad del mercurio en el suelo se utilizan una serie de sustancias químicas que lo liberan, sea por formación de complejos o debido a atracción intermolecular, entre las cuales están los agentes quelantes, como el ácido cítrico y EDTA [8] y sustancias que pueden competir con la materia orgánica por el mercurio, como el tiosulfato de sodio y de amonio [9].

En Colombia la mayor zona de explotación minera de oro, se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar con más de 12.400 minas en explotación [10]. La cantidad de mercurio liberado al ambiente en esta actividad no ha sido calculada con exactitud, pero ha sido estimada en cerca de 80-100 toneladas al año. El manejo inadecuado de este metal ha conllevado a la contaminación de suelos, sedimentos, cuerpos de agua y demás compartimientos ambientales [9]. En estos sitios contaminados se ha observado el crecimiento y proliferación de árboles de guarumo (*Cecropia peltata*), el cual pertenece a un género pionero, de rápido crecimiento, que crece en suelos poco fértiles y presenta semillas abundantes, persistentes y de producción frecuente [10].

A pesar del contexto anterior, se desconocía la capacidad del guarumo (*Cecropia peltata*) como planta fitorremediadora de suelos contaminados con mercurio, en forma natural y asistida con un agente quelante. Por esta razón, esta investigación determinó la capacidad que tiene esta especie para remover Hg en suelos de diferente grado de contaminación. Esto con el propósito de contar con una especie que pueda remediar y reforestar zonas erosionadas con historial minero; y a la vez evitar el uso de especies exóticas que pueden afectar la biodiversidad existente en la franja de explotación aurífera del país.

De manera más específica, se pudo obtener la cinética de acumulación, que es esencial para el trabajo de intervención de los suelos contaminados, convirtiéndose esto en una aportación fundamental en el desarrollo de la técnica de fitorremediación para recuperar suelos contaminados por Hg en Colombia. Además se caracterizaron los efectos fitotóxicos generados en el proceso de fitorremediación, permitiendo saber si las altas concentraciones de mercurio en suelos generan efectos mortales o morfológicos que impidan tener un buen rendimiento de remoción, y finalmente se pudo determinar el efecto de una sustancia quelante como ácido cítrico en la tasa de remoción del contaminante por parte del guarumo, lo que permite decidir su empleo o no en el momento de remediar un suelo contaminado con mercurio.

## 2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

### 2.1 GENERALIDADES DEL MERCURIO (Hg)

#### 2.1.1 Características físicas y químicas del mercurio

El término “Metales pesados” hace referencia a los metales tóxicos en razón de su peso específico, elevado número de electrones y las respuestas bioquímicas específicas que provocan en animales y plantas [11]. Dentro de este grupo los principales contaminantes ambientales son el cadmio, plomo y el mercurio, este último es considerado uno de los metales pesados más tóxicos y es un contaminante a escala global [12].

El mercurio es un elemento químico, cuyo nombre y símbolo (Hg) proceden del latín *hydrargirium*, es un líquido blanco plateado a temperatura ambiente, cuyo número y peso atómico es 80 y 200.59 u.m.a, respectivamente; su punto de fusión es de  $-38.4^{\circ}\text{C}$  y ebulle a  $357^{\circ}\text{C}$  a presión atmosférica estándar; su densidad es de 13,456 g/mL y tiene una presión de vapor de 0,00212 mmHg a  $25^{\circ}\text{C}$  [13]. Asimismo, la tensión superficial de mercurio líquido es de 484 dinas/cm, seis veces mayor que la del agua en contacto con el aire, por consiguiente, el mercurio no puede mojar ninguna superficie con la cual esté en contacto [14]. El Hg es soluble únicamente en medio oxidantes; forma soluciones llamadas amalgamas con algunos metales (oro, plata, platino, uranio, cobre, plomo, sodio y potasio) y en sus compuestos se encuentra en los estados de oxidación Hg(II) y Hg(I)[15].

El mercurio existe en diferentes especies químicas, ya sea de manera elemental, o formando compuestos inorgánicos y orgánicos. En su forma elemental Hg (0), tiene como estado de oxidación 0 y es la especie menos tóxica. En la formación de compuestos, el mercurio puede presentarse como ión mercúrico o mercurio II,  $\text{Hg}^{2+}$ ; e ion mercurioso o mercurio I,  $(\text{Hg}-\text{Hg})^{2+}$ , donde cada átomo tiene una carga positiva. Entre los compuestos donde el mercurio posee monovalencia se encuentra el cloruro de mercurio I ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ), mientras que el mercurio divalente se presenta en compuestos inorgánicos como cloruro de mercurio II ( $\text{HgCl}_2$ ),  $(\text{Hg}_3(\text{AsF}_6)_2)$ , y orgánicos como metilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ), etilmercurio

( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$ ) y fenilmercurio ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$ ). Cabe destacar que el enlace carbono-mercurio (Hg-C) de los compuestos órganomercuriales no es un enlace fuerte (cerca de 60 kJ/mol), pero es más estable frente al enlace mercurio-oxígeno (Hg-O). Esto ayuda a explicar porqué los compuestos organometálicos de mercurio son estables al oxígeno y al agua y por tanto persistentes en el ambiente [16].

Las especies mercuriales difieren entre sí en sus solubilidades en agua. Algunas sales de mercurio (II), por ejemplo,  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  o  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ , son muy solubles en agua y por lo general están disociadas; las soluciones acuosas de estas sales reaccionan como ácidos fuertes a causa de la hidrólisis que ocurre. Otras sales de mercurio como  $\text{HgCl}_2$  o  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ , también se disuelven en agua, pero en solución sólo están poco disociadas. Hay compuestos en que los átomos de mercurio están directamente enlazados a átomos de carbono o de nitrógeno; por ejemplo,  $\text{H}_3\text{C-Hg-CH}_3$  o  $\text{H}_3\text{C-CO-NH-Hg-NH-CO-CH}_3$ . En complejos, como  $\text{K}_2(\text{HgI}_4)$ , a menudo tiene tres o cuatro enlaces [17].

### **2.1.2 Fuentes de Contaminación**

El mercurio puede llegar a los diferentes compartimientos ambientales debido a dos fuentes: naturales y antropogénicas. Este metal puede ser liberado naturalmente a la atmósfera e intercambiarse entre el agua y el suelo mediante erosión eólica, desgasificación del suelo mineralizado, formación de rocas, erupciones volcánicas, actividades geotérmicas, y liberación desde la corteza terrestre. El mercurio se encuentra en muchos tipos de rocas, generalmente en forma de sulfuros minerales, como cinabrio ( $\text{HgS}$ ) y marcasita. Este contaminante también puede ser encontrado en forma nativa o asociado con oro (Au), o en menor proporción con cobre (Cu) y plata (Ag) [14].

Entre las fuentes antropogénicas de mercurio se encuentra la combustión de madera, basuras y de combustibles fósiles; producción de cal y cemento, procesamiento de metales; explotación aurífera y de mercurio; plantas cloro-alcalinas, así como en la fabricación y uso de pinturas, baterías, termómetros, pesticidas, abonos y fertilizantes utilizados en la agricultura [18].

### **2.1.3 Minería y mercurio en el orden mundial y nacional**

Además de las fuentes naturales de contaminación con mercurio, en los países en vía de desarrollo, como Brasil, Colombia, Ecuador y Bolivia, existe un factor importante de incremento en las concentraciones de este metal, como es la minería a pequeña escala o artesanal de oro, que por general no sigue las recomendaciones de seguridad y control de emisiones establecidas para esta actividad económica [19].

La extracción de oro con mercurio consiste de cuatro etapas principales: amalgamación, separación de la parte mineral de la amalgama, quema de la amalgama mercurio-oro y purificación del oro. La amalgamación consiste en mezclar manualmente la roca triturada enriquecida de oro con Hg metálico, posteriormente se libera el exceso de mercurio, generalmente en cercanías a corrientes de agua; la amalgama producida es de alta densidad y puede ser separada del resto de sedimentos por precipitación; luego esta amalgama es sometida a altas temperaturas con lo que se puede separar el oro sólido del Hg, siendo este último liberado al ambiente (como Hg<sup>0</sup>) en forma de vapor [20].

En el desarrollo de los procesos anteriores, se genera el derramamiento directo de grandes cantidades de mercurio a suelos, ríos y en cuerpos de agua como ciénagas y lagunas. La volatilización del mercurio usualmente se realiza a campo abierto liberando este contaminante directamente a la atmósfera; además estos procesos son realizados muy cerca de las viviendas de los mineros, de tal forma que las familias respiran gran parte del vapor de mercurio e ingieren alimentos y agua con concentraciones perjudiciales para la salud [9].

La explotación aurífera artesanal ha sido ampliamente desarrollada en la región amazónica del Brasil, considerando que hasta la fecha, al menos 2.000 toneladas de mercurio han sido liberadas al ambiente de este país. En Colombia la mayor zona de explotación minera de oro, se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar donde se ubicaban más de 12.400 minas en explotación para el año 2001 [8]. La cantidad de mercurio liberado al ambiente en esta

actividad no ha sido calculada con exactitud, pero ha sido estimada en cerca de 80-100 toneladas al año. El manejo inadecuado de este metal ha conllevado a la contaminación de suelos y demás compartimientos ambientales [9].

#### **2.1.4 Mercurio y salud humana**

Todas las formas conocidas de mercurio han sido establecidas como tóxicas, la exposición a concentraciones elevadas de Hg puede causar incluso la muerte; el Hg y los compuestos que este metal forma son persistentes y bioacumulativos, por consiguiente son de gran riesgo para la salud del hombre y la calidad ambiental [21]. La exposición al mercurio en el hombre puede ocurrir a través del consumo de alimentos contaminados (productos vegetales, peces, entre otras), la ingesta de agua y la respiración de aire contaminado [22]. La principal vía de ingreso de este tóxico al hombre, es el consumo de pescado contaminado y una vez se encuentra en el cuerpo, es capaz de producir serios trastornos de salud, puesto que puede atravesar la barrera hematoencefálica, ocasionando graves problemas neurológicos; también puede atravesar la barrera placentaria, produciendo daños teratogénicos en fetos; y puede generar cáncer, especialmente de riñón [23,25].

En la exposición a mercurio elemental ( $Hg^0$ ) a la que están expuestos los mineros auríferos, odontólogos, personas con amalgamas dentales y trabajadores de plantas de producción de cloro, entre otros, puede generar déficit en el desarrollo neurológico y de comportamiento, lo que puede incluir daños sutiles en la memoria visual, atención y velocidad en las respuestas visuales, auditivas y psicomotoras, pérdida reversible de la capacidad para distinguir colores, además de inflamaciones severas de la piel [26,27]. Por otra parte, el metilmercurio es acumulado tanto en el cerebelo como en la corteza cerebral donde es fuertemente enlazado a las proteínas a través de los grupos sulfidrilos. Uno de los grandes problemas de este agente tóxico es su alta capacidad para atravesar la barrera placentaria en forma de un conjugado de mercurio-cisteína, a través del sistema de transporte activo para aminoácidos neutros. La velocidad de transporte del metilmercurio a través de la barrera placentaria es 10 veces mayor respecto al

mercurio inorgánico [28-29]. En virtud de que los tejidos fetales tienen mayor afinidad para unirse al metilmercurio que los de la madre, los niveles comienzan a ser más altos en el nuevo ser que en la madre expuesta. Una vez en el feto, el metilmercurio puede penetrar la barrera hemato-encefálica para llegar al sistema nervioso central, en donde ejerce gran parte de su toxicidad [30,31].

La intoxicación ocasionada por la ingestión de pescado con altas concentraciones de metilmercurio es caracterizada por lesiones en el sistema nervioso central y periférico. Algunas de las manifestaciones neurológicas más frecuentes son: inhabilidad para coordinar voluntariamente los movimientos de los músculos (ataxia), temblores anormales repetitivos en el cuerpo (tremor), percepción de sensaciones anormales de la piel tales como adormecimiento, quemaduras (parestesia), pérdida en el control del habla, disminución en la capacidad visual y auditiva, y parálisis cerebral [32].

### **2.1.5 Transporte y distribución ambiental**

En el suelo los niveles naturales de mercurio han sido reportados en un rango de 0.003 - 4,6 µg/g, en el cual su estado químico depende de las propiedades del mismo, así como del pH, el potencial redox, los microorganismos presentes, y el contenido de compuestos inorgánicos y de materia orgánica; con esta última tiene gran afinidad, formando complejos estables con los sulfuros presentes. De igual forma puede ser adsorbido por minerales arcillosos y óxidos hidratados de hierro, aluminio y manganeso, sólo trazas de éste se pueden encontrar en solución, como iones libres o complejos de mercurio solubles [33].

Gracias a su alta presión de vapor el mercurio se volatiliza de la matriz suelo y una vez en la atmósfera el mercurio elemental puede ser convertido a la forma soluble ( $\text{Hg}^{2+}$ ) como producto de procesos de oxidación-reducción o reacciones fotoquímicas, retornando luego a la superficie de la tierra mediante las precipitaciones. En aguas oceánicas, la concentración de mercurio oscila entre 0.3 y 4.4 ng/L, y forma principalmente hidróxidos ( $\text{Hg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{CH}_3\text{HgOH}$ ) y cloruros

( $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ), y de manera disociada en especial de la forma iónica ( $\text{HgCl}_4$ )<sup>2-</sup> [34].

En aguas continentales la especie predominante es la de  $\text{Hg}^{2+}$ , muy soluble y que puede ser bioacumulado directamente por los peces, o seguir un proceso de biotransformación, realizado por microorganismos acuáticos, dando lugar a dos especies orgánicas, el dimetilmercurio volátil, que se recicla a la atmósfera y el metilmercurio, que se bioacumula en los peces, y por tanto es incorporado a las cadenas tróficas. A su vez, el metilmercurio formado, puede transformarse en  $\text{Hg}_2^{2+}$ , el cual se oxida a  $\text{Hg}^{1+}$ , siguiendo su ciclo de biotransformación, o en  $\text{Hg}$  metálico, que se deposita en forma de sedimentos [35].

El proceso de bioacumulación ocurre cuando los organismos (incluyendo humanos), incorporan sustancias tóxicas a una velocidad mayor de la que sus cuerpos pueden eliminarlas, acumulando así dichas sustancias en diferentes tejidos. El metilmercurio tiene una enorme capacidad de bioacumularse debido a sus propiedades lipofílicas y de gran afinidad a estructuras proteicas, especialmente a aquellas con un alto contenido en residuos de cisteína. Los organismos acuáticos pueden obtener el metilmercurio a partir del alimento, el agua y los sedimentos [36].

### **2.1.7 Mercurio en el suelo**

Las formas dominantes del mercurio en el suelo son el  $\text{Hg}^{2+}$  y el  $\text{Hg}^0$ , y pueden estar disueltos o adsorbidos. En el suelo el  $\text{Hg}^{+2}$  puede ser transformado a  $\text{Hg}^0$  por mecanismos abióticos o por acción bacteriana, así los ácidos húmicos y fúlvicos del suelo son capaces de reducir el  $\text{Hg}^{+2}$  a  $\text{Hg}^0$ , mediante la activación por luz solar. Algunas bacterias lo hacen mediante reducción enzimática vía mercurio reductasa, por acción del gen merA, y otras por la enzima órganomercurioliasa (gen merB), que cataliza la ruptura del enlace carbono-mercurio de sus formas orgánicas; así como también existen cepas bacterianas sulfato reductoras que son capaces de metilar el  $\text{Hg}^{+2}$  a metilmercurio ( $\text{CH}_3\text{-Hg}^+$ ) [37,38].

Para los estudios de acumulación de mercurio en suelo es indispensable conocer como esta conformado el sustrato contaminado; así los altos contenidos de compuestos azufrados y de minerales azufrados como esfalerita, ZnS; galena (PbS); la calcopirita, (CuFeS<sub>2</sub>); y pirita (FeS<sub>2</sub>), pueden indicar que una fracción de mercurio en el sustrato puede estar presente como compuestos azufrados, formas que son insolubles, por lo que están relativamente no disponibles para las transformaciones químicas y biológicas [39].

Por otra parte, el mercurio también puede formar sus enlaces con la materia orgánica (MO), debido a que este contaminante tiene una amplia afinidad por la MO de la matriz del suelo y puede formar complejos estables con los grupos sulfhidrilos presentes en éste. La retención del mercurio en el suelo conlleva a una problemática mayor, debido a que a mayor tiempo de residencia del contaminante en el suelo hasta las formas menos móviles habrán sufrido transformaciones a formas orgánicas de mercurio, que son mucho más tóxicas que las inorgánicas [40]. En la explotación minera, la oxidación de la pirita, entre otros factores pueden generar efluentes ácidos que pueden disminuir el pH del suelo a un valor menor a 3.5, lo que aumenta la biodisponibilidad de metales y la reactividad de minerales. El pH también afecta la solubilidad y disponibilidad de macro y micro-nutrientes, con lo que la actividad y crecimiento microbiano son fuertemente afectados, pues la mayoría de las bacterias tienen un rango óptimo de 6.5 a 8.5 [41]. Otro factor que influye en la disponibilidad del Hg en el suelo es la presencia de minerales poco reactivos, que no contribuyan a la retención del elemento como cuarzo, clorita, illita y pirofilita, junto con carbonatos irregularmente distribuidos, que son frecuentes en suelos formados sobre rocas magmáticas alteradas [42].

## **2.2. FITORREMEDIACIÓN**

### **2.2.1 Técnicas de remediación de suelos contaminados con mercurio y fitorremediación**

Para la remediación de suelos contaminados con mercurio, existen técnicas químicas como el lavado del suelo con sustancias halogenadas, y físicas, como la excavación, electroremediación y tratamiento térmico; pero que pueden llegar a ser muy costosas y además causan daños en el ambiente ya deteriorado [3]. Razón por lo cual, las técnicas biológicas son de gran utilidad ante esta problemática; una de ellas es la fitorremediación, que consiste en el uso de plantas y sus microorganismos asociados para remover, transferir, estabilizar y/o degradar contaminantes en suelo, sedimentos y agua. Esto último es posible debido principalmente a que las plantas utilizan servicios libres provenientes del medio natural como la energía proveniente del sol y el CO<sub>2</sub> atmosférico para realizar procesos de remediación ambiental [43].

Las plantas tienen una habilidad notable para extraer y concentrar contaminantes a partir del aire a través de los estomas, y del agua y suelo por medio de su rizósfera; también cuentan con mecanismos en su metabolismo para poder realizar transporte de metales. Se caracterizan, además por tener respuestas enzimáticas para frenar el estrés oxidativo provocado por el incremento en la concentración celular de metales tóxicos [44]. Por otro lado, dada la particularidad de que las plantas carecen de la habilidad de desplazarse, éstas han creado sistemas bioquímicos únicos para la adquisición de nutrientes, control y detoxificación en la rizósfera [45]. Además de estas adaptaciones fisiológicas, el sistema de raíces de las plantas puede hacer infiltraciones en grandes volúmenes de suelo [46]. Como resultado de estas ventajas surge el interés de usar a las plantas como medio para enfrentar la contaminación ambiental y recuperar sitios contaminados. Por tal razón la fitorremediación se considera ahora una tecnología prometedora, de bajo costo y amigable con el ambiente, con la cual de manera integral, se podrán recuperar distintos sitios contaminados [47].

### **2.2.2 Ventajas y limitaciones de la fitorremediación**

Entre las características que tienen las plantas empleadas para la remediación de ambientes contaminados con mercurio están: Poseer una rizósfera que crea una gran área superficial donde el contaminante puede ser capturado en sus formas químicas móviles; son autótrofas, y como tales, toman sus nutrientes elementales directamente del ambiente; y secretan compuestos fijadores de carbono hacia el suelo, promoviendo el desarrollo de bacterias y hongos que pueden ser esenciales para recuperar el ecosistema [48]. Otra ventaja de la fitorremediación es que esta técnica puede desarrollarse *in situ*, disminuyendo costos, puesto que se requiere de un mínimo mantenimiento y manejo de materiales; también se evita la excavación, mejorando la fertilidad del suelo y con posibilidad de crecer nueva vegetación [49].

La fitorremediación puede tener limitantes en cuanto a la profundidad de la zona a tratar, puesto que ella esta condicionada por el tamaño de las raíces de la planta (la cual puede ser de unos centímetros o varios metros); asimismo, depende de factores climáticos, como la estación del año. Además, esta técnica es aplicable para sitios con concentraciones bajas o moderadas; y tiene el riesgo de ingresar los contaminantes a la cadena trófica y de emitirlos al ambiente por la volatilización de éstos desde las hojas [50].

Otra limitante es el tiempo de remediación del sitio contaminado, que puede estar entre 1 a 20 años, por lo que se deben requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables. Sin embargo, en la actualidad se vienen empleando técnicas químicas y biotecnológicas que favorecen las tasas de acumulación de mercurio, al igual que especies con poca interacción con las cadenas tróficas [51-52].

### **2.2.3 Procesos de fitorremediación**

Dependiendo del contaminante, las condiciones del lugar, el nivel de descontaminación requerido y los tipos de plantas, la fitorremediación puede ser

usada con propósitos de retención (fitoestabilización y fitofiltración) o remoción (fitoextracción y fitovolatilización). Cada proceso requiere, en primer lugar, de la capacidad de las plantas para tolerar la toxicidad de los contaminantes y posteriormente la habilidad para acumular, translocar y/o volatilizar a los mismos. A continuación se describen estos procesos básicos [53].

Fitoacumulación o fitoextracción. Las plantas absorben el metal del suelo, aguas superficiales o semiprofundas y los transporta a las partes cosechables de la planta donde son acumulados [54]. En este proceso se requieren plantas no sólo tolerantes a los metales tóxicos, sino que además deben tener un rápido crecimiento y alto porcentaje de acumulación, y producción de biomasa [55].

Fitovolatilización. Las plantas extraen ciertos metales del suelo, los cuales se liberan a la atmósfera por volatilización [56]. A través de este mecanismo se transforman formas orgánicas e iónicas de Hg a la forma elemental  $Hg^0$ , transpirando este elemento al aire [57].

Fitoestabilización. Las plantas más que remover, estabilizan el mercurio por la retención y concentración de éste en la rizósfera. Este proceso, en sí, sólo reduce la movilidad del metal en el perfil del suelo y previene la migración del contaminante a aguas profundas [58]. Diferentes procesos en la rizósfera estimulan la precipitación y conversión de los metales en el suelo a formas insolubles disminuyendo su biodisponibilidad [59].

Fitofiltración o rizofiltración. Las plantas hacen usos de sus raíces para absorber, adsorber, concentrar y precipitar metales tóxicos en agua [60].

#### **2.2.4 Plantas hiperacumuladoras**

La mayoría de las plantas capaces de crecer en tierras ricas en metales lo hacen excluyendo iones potencialmente tóxicos de sus sistemas de raíces; en otras plantas, los metales son utilizados como micronutrientes, sin embargo concentraciones mínimas saturan a la planta. La habilidad de tolerar la presencia

de metales pesados está determinada por el nivel de variación genética del individuo [7].

Los pastos son el género más adecuado para la fitorremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas. Además se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio para la fitorremediación. A la fecha, se han identificado más de 400 especies de plantas entre terrestres y acuáticas [61], pertenecientes a 22 familias, de las cuales la familia *Brassicaceae* contiene 87 especies incluidas en 11 géneros tolerantes a los metales y capaces de crecer en concentraciones elevadas [62].

Se han reportado especies de musgos (Briofitas) y helechos (Pteridofitas) con capacidad de crecer en sustratos ricos en metales, incluyendo mercurio. Entre las angiospermas, se han identificado cerca de 400 hiperacumuladoras; entre las familias dominantes se encuentran: *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Cyperaceae*, *Cunouniaceae*, *Fabaceae*, *Flacourtiaceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae*, *Violaceae* y *Europhobiaceae*. De estas familias, la *Brassicaceae* tiene el mayor número de taxones (11 géneros y 87 especies) con capacidad para hiperacumular metales [63]. Entre las plantas que se han evaluado y determinado su potencial acumulador de mercurio están pastos como *Polipogon monspeliensis* y otras como *Arabidopsis thaliana*, *Brassica juncea*, *Eichornia crassipes*, *Typha sp* y maderables en especial el álamo (*Populus sp*), sauce (*Salix sp*) y eucalipto (*Eucalyptus sp*). Incluso se han reportado especies comestibles como maíz (*Zea mays*), tomate (*Solanum lycopersicum*), trigo (*Triticum spp*) y espárragos (*Asparagus officinalis*).

Para emplear plantas hiperacumuladoras en procesos de fitorremediación se requiere que sean de rápido crecimiento y adquieran biomasa considerablemente, puesto que facilita su siembra y recolección, contribuyendo así al proceso de extracción de la masa vegetal receptora del contaminante; sin embargo también se pueden emplear maderables como es la *Cecropia peltata*, debido al alto

potencial de acumulación en los mismos y por su gran masa vegetal, además se puede emplear para fitoremediar y recuperar suelos deteriorados por acción de la explotación minera.

### **2.2.5 *Cecropia peltata***

La clasificación taxonómica de *Cecropia peltata* es:

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Urticaceae
Genero	<i>Cecropia</i>
Especie	<i>C. peltata</i>

El guarumo, yarumo o yagrumo (*Cecropia peltata*) es un árbol dioico que crece entre 5-10 m de altura, aunque en sus zonas de origen puede alcanzar más de 20 m, con el tronco derecho, hueco, produciendo con el tiempo raíces zancudas o contrafuertes; corteza lisa, gris clara, con grandes cicatrices circulares de las estípulas caídas y abundantes lenticelas. Esta especie es representativa de la zona intertropical americana y se extiende desde México hasta América del Sur, incluyendo las Antillas. Es común en clima cálido, aunque puede llegar a crecer a alturas de más de 2.000 metros en las laderas montañosas, en zonas conodicas como selva nublada o bosque nuboso. Es un árbol típico de la vegetación pionera, crece en los rastrojos, por lo que es ideal para proyectos de reforestación. Puede crecer en cualquier parte, incluyendo las paredes y pilares de cemento de los puentes y otras construcciones.

Tiene ramas gruesas, horizontales. Ramillas huecas, tabicadas, con numerosas cicatrices anulares y lenticelas. Yemas de 10-12 cm de largo, cubiertas por una estípula pubescente, caediza. Hojas peltadas, redondeadas, coriáceas, de 30-40 cm de diámetro, divididas en 7-11 lóbulos unidos cerca de la base, enteros o algo sinuosos; tienen el haz áspero al tacto, y el envés blanco-tomentoso, con la nervadura sobresaliente en el envés. Pecíolo de 30-50 cm de longitud, tomentoso.

Flores masculinas dispuestas en espigas, y éstas en grupos de 15 a 40, de 3-5 cm de longitud, sobre pedúnculos de 4-12 cm de largo, con espatas de 2,5-6,5 cm de longitud; flores femeninas dispuestas en espigas, y éstas en grupos de 4 a 5, de 4-7 cm de largo, sobre pedúnculos de 2-9 cm de largo, con espatas de 1,5-4 cm de longitud. Infructescencia formada por numerosos aquenios muy pequeños junto con el perianto persistente [10].

### **2.2.6 Fitotoxicidad del mercurio**

El mercurio es considerado uno de los metales más tóxicos para las plantas, se relaciona con la alteración de muchas reacciones fisiológicas y bioquímicas, como las de luz y oscuridad de la fotosíntesis, captación de nutrientes minerales, permeabilidad de la membrana plasmática, transpiración, y funciones normales de las enzimas, vitaminas y hormonas, reduce el índice mitótico en el meristemo apical de la raíz y aumenta la frecuencia de aberraciones cromosómicas, que son directamente proporcional a la concentración de Hg. También puede reemplazar metales esenciales en pigmentos y presentar gran afinidad por los grupos sulfidrilos (-SH), formando así puentes -S-Hg-S-, e interfiriendo con funciones en que participan proteínas no protegidas y en el peor de los casos, una gran concentración de Hg puede llevar a la precipitación total de proteínas [64,65]. Por otra parte los iones de mercurio tienden a formar enlaces covalentes, pueden unirse al DNA e inducir cambios en cromátidas hermanas en el núcleo celular (66).

El efecto fitotóxico de los compuestos mercuriales ha sido reportado en algunas plantas como el trigo, el arroz y otros cereales; donde se ha observado necrosis en la punta de las hojas, germinación anormal, disminución del porcentaje de germinación, y la reducción de la longitud de tallos y raíces. Cabe destacar que los efectos fitotóxicos afectan también el suelo, dejándolo no apto para el desarrollo de las plantas y destruyendo su biodiversidad [67].

### **2.2.7 Actividad de la rizósfera**

Las plantas alteran su rizósfera debido a la estimulación y regulación del crecimiento de distintas poblaciones de microbios naturales en el suelo; la

alteración del pH del suelo; y a través de la segregación de enzimas y químicos sideróforos. La mayoría de las plantas secretan al suelo ácidos orgánicos como citratos, lactatos, malatos y otros más complejos como flavonoides; estas sustancias atraen y estimulan el crecimiento de distintas poblaciones de microorganismos, las cuales tienen diferentes efectos sobre la movilidad y toxicidad de varios contaminantes elementales (68). Así por ejemplo, hay plantas que estimulan el crecimiento de bacterias que pueden transformar químicamente y solubilizar nutrientes que se encuentran muy ligados al suelo como Zn (II) y Cu (II). El Hg (II) presenta propiedades similares al Zn (II) y Cu (II), y puede liberarse análogamente del suelo y quedar disponible para su posterior captación por las plantas [69].

También se ha determinado que la acidez del suelo tiene un significativo impacto sobre la captura de nutrientes y de iones de metales tóxicos del suelo por parte de la planta, incluyendo Fe (III), Zn(II), Cu(II), Al(III), y Hg(II) [70]. La capacidad de las plantas de acidificar el suelo circundante es el resultado directo de la producción fotosintética de compuestos de carbón reducido que pueden ser transportados debajo de la tierra; una vez el carbón reducido es transportado a la tierra, esta se convierte en una fuente química de alto poder reductor, produciendo NADPH y ATP [2].

La captación del elemento y transporte, tiene un mejor desempeño en sistemas de cortas distancias en las raíces, así como también que las vellosidades tengan numerosos transportadores endógenos. Es probable que en la raíz los transportadores para hierro, cobre, cinc, tomen iones mercúricos, que luego son transmitidos (junto a los nutrientes) de célula en célula (vía simplástica). Cabe destacar que periodos cortos de inanición de nutrientes como  $K^+$ , Zn(II), Fe(II), o fosfatos, hacen que las plantas tomen esos nutrientes más los tóxicos, a unas tasas mucho más altas que las raíces que no han sufrido la inanición [71].

Se conoce que las raíces de las plantas, a través de sus vellos radicales y en especial su capa dérmica, son capaces de segregar enzimas, que condicionan el suelo. Las estructuras subcelulares de la epidermis de la raíz y sus células

fronterizas están dominadas por membranas ricas en sistemas de golgi y vesículas involucradas en el transporte macromolecular. En estas secreciones están incluidas fitosideróforos de bajo peso molecular, como ácidos orgánicos y ácidos mugineicos que sueltan nutrientes firmemente limitados de la matriz de la tierra. La inanición de nutrientes induce la síntesis de algunas clases de sideróforos y la quelación de varios iones de elementos como hierro, zinc, cobre, cadmio, aluminio, arseniatos, fosfatos y mercurio, afectan su solubilidad y hacen de ellos más o menos disponibles para la captura por las plantas [72,73].

### **2.2.8 Mecanismos en el interior de la planta**

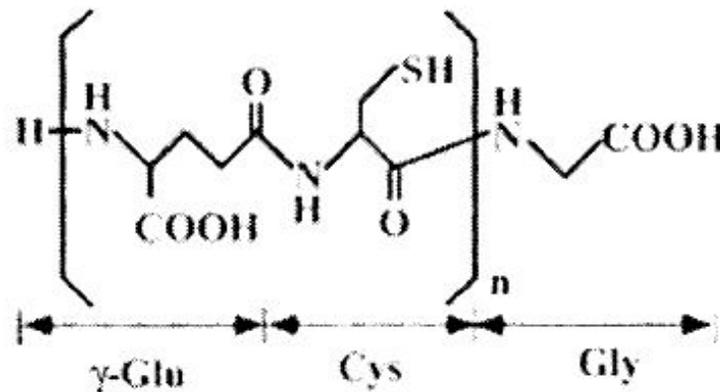
El estado electroquímico y la especiación química de elementos contaminantes pueden contribuir a su movilidad desde las raíces a los retoños. En el caso del mercurio se consideran las especies más móviles el mercurio elemental y el ión Hg (II). La mayoría del mercurio Hg (II) que es capturado permanece ligado a los tejidos de la raíz, mientras que el Hg(0) capturado por las raíces y por las hojas es reducido a Hg(II) y permanece ligado a los tejidos [2].

El control sobre el estado electroquímico y la especiación química de los metales pesados en las partes superiores de la planta es una condición que deben tener las plantas hiperacumuladoras. Una vez el tóxico ha sido transportado a las partes superiores de la planta, este se concentra y se almacena; este paso requiere de la transformación a especies más o menos reactivas que favorezcan esta acumulación. El control de estas dos variables maximiza el almacenamiento de los elementos en las hojas, tallos, y los tejidos vasculares, así el mercurio es transportado como Hg(0) a las partes superiores de las plantas, donde los niveles de peroxidasa y catalasa oxidan el Hg(0) a Hg(II). El Hg (II) es altamente reactivo y forma productos particularmente estables con tioles reducidos; los cuales pueden almacenarse en las plantas en grandes cantidades [74].

Los reservorios físicos como vacuolas subcelulares, células epidermales y elementos vasculares muertos han mostrado su capacidad para almacenar grandes cantidades de algunos tóxicos en las partes superiores de las plantas nativas hiperacumuladoras. Plantas específicas ya pueden reconocer el glutatión

conjugado de Hg(II) y los bombea a las vacuolas; así por ejemplo la APS *Indian mustard* (modificada genéticamente) puede tolerar mejor los metales porque tiene altas concentraciones de glutatión en comparación con la planta nativa [2].

Para hacer frente al estrés oxidativo y disminuir la concentración celular de metales tóxicos, las plantas tienen la capacidad de secuestrar iones tóxicos en complejos dentro del citoplasma y así evitar su interacción en rutas metabólicas. Las fitoquelatinas (PC's) juegan un papel fundamental en la detoxificación de metales tóxicos en las plantas y los hongos (figura 4), debido a que forman complejos con los metales y son translocados a través del tonoplasto y secuestrados en las vacuolas, disminuyendo así el contenido de metales tóxicos en el citosol [75].



**Figura 4.** Estructura general de las fitoquelatinas

Las fitoquelatinas son sintetizadas a partir del complejo glutatión por la enzima PC sintasa, su estructura primaria generalmente consiste en  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$  ( $n=2-11$ ); tienen la capacidad de formar complejos con metales como Cd, Cu, Zn, Ag y Hg. La fuerza de unión del Hg (II) a los complejos glutatión y fitoquelatinas, ocurre de la siguiente manera:  $(\gamma\text{-Glu-Cys})\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_3\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_4\text{-Gly}$ . Otros mecanismos que tienen las plantas hiperacumuladoras para

evadir la acción tóxica del mercurio es depositarlo sobre la pared celular, y hacer enlaces a grupos -SH en el límite del citoplasma [76].

### **2.2.9 Incremento de la capacidad de acumulación de Hg**

Dos metodologías se han propuesto para mejorar la acción remediadora de las plantas, una de ellas es mediante la utilización de sustancias químicas como el yoduro de potasio, EDTA, ácido cítrico, tiosulfato de amonio y de sodio, que aumentan la disponibilidad del mercurio en el suelo [77] y a través del empleo de técnicas de ingeniería genética que consiste en el uso de plantas modificadas que contienen genes de resistencia al mercurio e incrementan su volatilización; éstas plantas transgénicas son capaces de extraer  $Hg^{+2}$  y metilmercurio de suelos y sedimentos contaminados y convertirlos a  $Hg(0)$ ; la forma menos tóxicas y más volátil [78].

#### **2.2.9.1 Empleo de sustancias quelantes**

En la actualidad se están desarrollando investigaciones que buscan incrementar el rendimiento de la fitorremediación a través del empleo de sustancias que están en capacidad de liberar el mercurio del suelo que se encuentra fuertemente asociado a la materia orgánica (MO), especialmente a los grupos  $SH^-$  contenidos en ésta, con los ligandos  $OH^-$  y  $Cl^-$  y los minerales arcillosos [5].

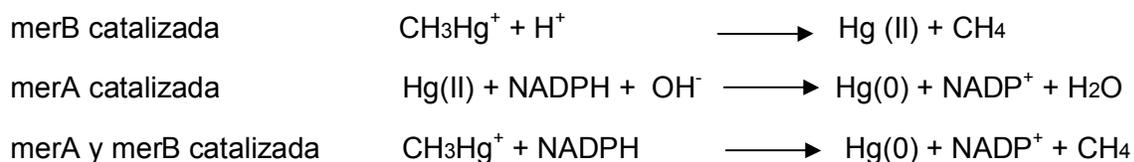
El empleo de yoduros genera un buen rendimiento de extracción, formando complejos solubles estables ( $HgI_4^{-2}$ ), pero su toxicidad sobre las plantas es muy alta, debido a que inhibe el proceso fotosintético por la oxidación intracelular de I a  $I_2$  [79]. El tiosulfato de amonio  $(NH_4)_2S_2O_3$ , aumenta la acumulación de mercurio de 4 a 6 veces más, comparadas con plantas sin tratamiento, de *Brassica juncea* (Indian Mustard); de igual forma el tiosulfato de sodio  $(Na_2S_2O_3)$  aumenta la retención del mercurio, aunque su uso produce síntomas fitotóxicos como clorosis y marchitamiento en las hojas [2]. El EDTA es un agente quelante que moviliza el mercurio y lo hace biodisponible para la planta, sin embargo es poco biodegradable y sus complejos son muy persistente en el ambiente [67]; el ácido cítrico, forma complejos con el mercurio que lo hacen movilizar e incrementar su

acumulación, sin embargo este es menos eficiente que el EDTA en la fitoextracción de metales pesados, debido a su rápida mineralización, además altas concentraciones de EDTA disminuyen el crecimiento de la planta [80].

### 2.2.9.2 Empleo de especies modificadas genéticamente

La tolerancia de las plantas a los elementos tóxicos es esencial para desarrollar todos los aspectos de una estrategia de fitorremediación. Esta propiedad es importante, puesto que las raíces de éstas plantas pueden penetrar y extraer eficientemente metales pesados de suelos contaminados; sin dicha resistencia, las raíces no crecerían en los sitios contaminados. Especies como el tabaco, canola, el algodón de madera, y el álamo amarillo han sido modificadas genéticamente para tolerar niveles de mercurio que podrían matar a la mayoría de las especies.

Las plantas modificadas que expresan el gen bacteriano mer B, transforman al metilmercurio; que es la especie más tóxica y de mayor índice de biomagnificación del mercurio, a mercurio Hg (II), (que es menos tóxico) y metano, ampliando significativamente la tolerancia de la planta al contaminante. De igual manera, las plantas que expresan el gen bacterial mer A, están en capacidad de detoxificar el ion mercurio Hg(II) por reducción electroquímica a mercurio elemental Hg(0), aumentando la resistencia de éstas plantas a niveles de Hg(II), que matarían a otras especies. Incluso la combinación transgénica de expresiones de merA y merB en plantas aumentan su resistencia al mercurio entre 2 y 10  $\mu\text{M}$ , un nivel 100 veces más alto con lo que se podría matar a otras plantas. Las reacciones descritas se muestran en las siguientes ecuaciones químicas:



Es probable que además de expresar los genes *merA* y *merB*, se puedan manipular genéticamente las plantas para que potencialicen otras características como: pH en la rizósfera, con el propósito que puedan capturar mayor cantidad de elementos tóxicos por sobreexpresión apropiada de los miembros de familias bombeadoras de  $H^+$  en las raíces de las plantas; transporte por el sistema vascular de las plantas, debido a que se podría reforzar genéticamente el sistema de transporte de hierro, zinc y cobre para incrementar la captura de mercurio; así como la síntesis de mayor cantidad de fitoquelatinas, que puedan capturar y depositar este contaminante en las vacuolas de las células de las plantas modificadas [81].

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Evaluar la capacidad del guarumo (*Cecropia peltata*) como planta fitorremediadora de suelos contaminados con mercurio de la mina Santa Cruz, sur de Bolívar

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Identificar la capacidad acumuladora de las plantas guarumo ya establecidas en mina Santa Cruz
- Establecer la cinética de acumulación de mercurio total en raíces, tallos y hojas de la *Cecropia peltata* en sus primeros 4 meses de crecimiento
- Determinar la influencia del grado de contaminación del suelo sobre la tasa de acumulación y remoción de la planta
- Evaluar la eficiencia del ácido cítrico sobre la acción fitorremediadora del guarumo en los suelos con diferente grado de contaminación
- Establecer la tasa de fitorremediación de suelos generado en el crecimiento inicial de las plantas de guarumo
- Identificar rasgos fitotóxicos de las plantas de *Cecropia peltata* sembradas en suelos contaminados con mercurio, en sus etapas iniciales de crecimiento mediante la observación de sus características morfológicas

### **4. METODOLOGÍA**

#### **4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ACUMULADORA DE LAS PLANTAS GUARUMO YA ESTABLECIDAS EN EL SITIO DE ESTUDIO**

Inicialmente se envió una muestra de material vegetal para su identificación en el herbario nacional colombiano. Los resultados mostraron que el nombre de la especie es *Cecropia peltata* y número COL: 530664.

**Sitio y tipo de estudio.** Esta fase es de tipo exploratoria - descriptiva y se desarrolló en mina del sur de Bolívar.

**Población y muestra.** Se evaluaron tres poblaciones: el suelo de la mina Santa Cruz; los árboles de guarumo de diferentes tamaños establecidos en mina; y el suelo de su rizósfera.

Se tomó una muestra aleatoria de raíces, tallos y hojas de 15 plantas de guarumo de tres rangos de diferente tamaño (0-3m; >3-6m; >6m) establecidas en la zona. El corte de las raíces se realizó a 30 cm de profundidad, y en los tallos a la mitad de su longitud, mientras que las hojas recolectadas fueron maduras. A cada una de las quince plantas seleccionadas se les tomó una muestra de suelo dentro de sus rizósferas. Finalmente se compararon estas últimas con 40 muestras de suelo en diferentes partes de la mina que no hicieran parte de las rizósferas de las plantas seleccionadas. Todas las muestras de suelo en este estudio se tomaron entre 0 y 30 cm de profundidad, como lo indica Smolinska y Cedzyska [82].

**Preparación de las muestras.** Se tomaron 50 gramos de cada una de las muestras vegetales y se empacaron en bolsas de polietileno de cerrado hermético y enviadas al laboratorio para su posterior análisis. Mientras que las muestras de suelo se empacaron en bolsas de PVC y tuvieron un peso de 200 g cada una.

**Análisis de laboratorio.** Las muestras se deshidrataron a 60 °C durante 72 horas, se pesaron y de esta se tomaron 100 mg para ser digeridas en 2 mL de solución HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> (7:1, v/v) a 80°C durante 6 horas y posteriormente enfriadas, filtradas y diluidas con agua destilada hasta 10 mL para su análisis de mercurio total por espectrofotometría de absorción atómica por vapor en frío [83].

## 4.2 DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL GUARUMO (*Cecropia peltata*) COMO PLANTA ACUMULADORA DE MERCURIO.

**Sitio y tipo de estudio.** Esta fase es de tipo experimental y se desarrolló en un invernadero en la ciudad de Sincelejo.

**Diseño experimental.** Se evaluó la influencia de tres variables: la concentración de Hg en suelos, el tiempo de crecimiento de la planta y la presencia de un agente quelante (ácido cítrico) sobre la acumulación de Hg en raíces, tallos y hojas de *Cecropia peltata* (variable de respuesta). Para ello se sembraron 40 plántulas en muestras de suelo con alta concentración de Hg total y 40 en una muestra con concentración intermedia. A 15 plántulas de cada uno de los anteriores niveles de tratamiento, se le suministró una dosis de ácido cítrico. El esquema del diseño factorial se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño experimental para la determinación comportamiento del guarumo (*Cecropia peltata*) como planta acumuladora de mercurio

Suelos	Sin ácido cítrico	Con ácido cítrico	Total plantas
Mayor contaminación	20 (plantas)	20	40
Contaminación media	20	20	40
Total	40	40	80

**Población, unidad experimental y muestra.** La población es el total de bolsas que contienen las plántulas de guarumo sembradas en los suelos contaminados, y la unidad experimental es cada una de esas bolsas. Los suelos, alta y medianamente contaminados, se tomaron en diferentes puntos de la mina Santa Cruz. Cada muestra tuvo un peso de 50 kg. Por otra parte, las muestras vegetales se tomaron, mensualmente hasta que completaron 4 meses de crecimiento y llevadas al laboratorio para la determinación de Hg total.

**Siembra de plántulas.** Se trasplantaron 60 plántulas de guarumo (previamente germinadas en el suelo control), individualmente en 0.6 kg de suelo en cada unidad experimental y se llevaron a un invernadero de 5 x 4 m, ubicado en las

instalaciones de la Universidad de Sucre, a condiciones normales que evitaron gradientes de luz y temperatura.

**Condiciones de crecimiento.** El ácido cítrico se le suministró a una concentración de 1 g/kg de suelo, cada siete días, a partir de la segunda semana de crecimiento. Todas las plantas se regaron dos veces al día con agua de grifo a  $\frac{3}{4}$  de su capacidad de campo. También se realizó un seguimiento de las características morfológicas como longitud de la planta, peso de materia seca, número de hojas, abscisiones, número de hojas con clorosis y necrosis, para identificar posibles efectos tóxicos de los suelos contaminados con Hg en las plantas de guarumo. La comparación se realizó con plántulas de guarumo sembradas en el suelo control.

**Análisis de laboratorio.** Los análisis de Hg total en las muestras vegetales y las de suelo se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica por vapor en frío. A las muestras procedentes de mina Santa Cruz se les determinó: pH, capacidad de campo y contenido de materia orgánica, según lo establecido por el standar methods 20<sup>th</sup> edición [84].

#### **4.3 RENDIMIENTO DE LA CAPACIDAD FITORREMIADORA DE Hg DEL GUARUMO.**

**Sitio y tipo de estudio.** Esta fase es de tipo experimental y se desarrolló en condiciones controladas en la ciudad de Sincelejo.

**Población y muestra.** La población en esta fase corresponde a la cantidad de total de suelo alta y medianamente contaminadas con Hg, que se emplearon en la prueba de acumulación del guarumo en el invernadero. A cada uno de los dos tipos de suelo antes de sembrar las plántulas se le tomaron tres muestras de 100 g, y se llevaron al laboratorio para el análisis de Hg total, Hg biodisponible y Hg no disponible. Una vez sembradas y transcurrido cuatro meses, se tomaron 4 muestras por triplicado de 100 gramos, distribuidos de la siguiente manera: dos, correspondientes a los tipos de suelo, y dos a la presencia o no de agente quelante.

**Análisis de laboratorio.** La determinación de Hg total por espectrofotometría de absorción atómica (ver anexo7). Mientras que la extracción de la fracción de mercurio biodisponible se aplicó la técnica de BCR-SES en la que se utilizaron 20 mL de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 0.1M a 25°C durante 16 horas para obtener la fracción soluble e intercambiable y unida a carbonatos mediante espectrofotometría de absorción atómica.

**Análisis de datos.** Los datos de concentración de Hg total en raíces, tallos y hojas, así como en las muestras de suelo de la mina; de las rizósferas y demás que se desprendan de este estudio, se presentan como media +/- error estándar. Para todos los análisis estadísticos de esta investigación, que impliquen la comparación de medias, se aplicaron inicialmente las pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y el test de homogeneidad de varianza de Bartlett. Posteriormente, se realizaron Anovas factoriales teniendo como variable dependiente la concentración de Hg total en cada parte de la planta y como variables independientes: el grado de contaminación del suelo, la aplicación de un agente quelante para liberar Hg del suelo y el tiempo de crecimiento de la planta. También se realizó un anova factorial para determinar influencias sobre la capacidad remediadora y el porcentaje de Hg biodisponible, para ello se tomaron como variables dependiente la concentración de Hg total y biodisponible en suelo respectivamente y como las variables independientes de análisis anterior.

Se realizaron Anovas en una vía con postest de Tukey para determinar la cinética de acumulación en tallos, raíces y hojas y un t-test para determinar diferencias estadísticamente significativas entre la acumulación en raíces que crecieron en dos suelos con diferente grado de contaminación. También se realizaron análisis de correlación entre la concentración de Hg en diferentes partes de la planta en campo y en laboratorio, así como entre la concentración de Hg total en raíces y suelos de sus rizósferas.

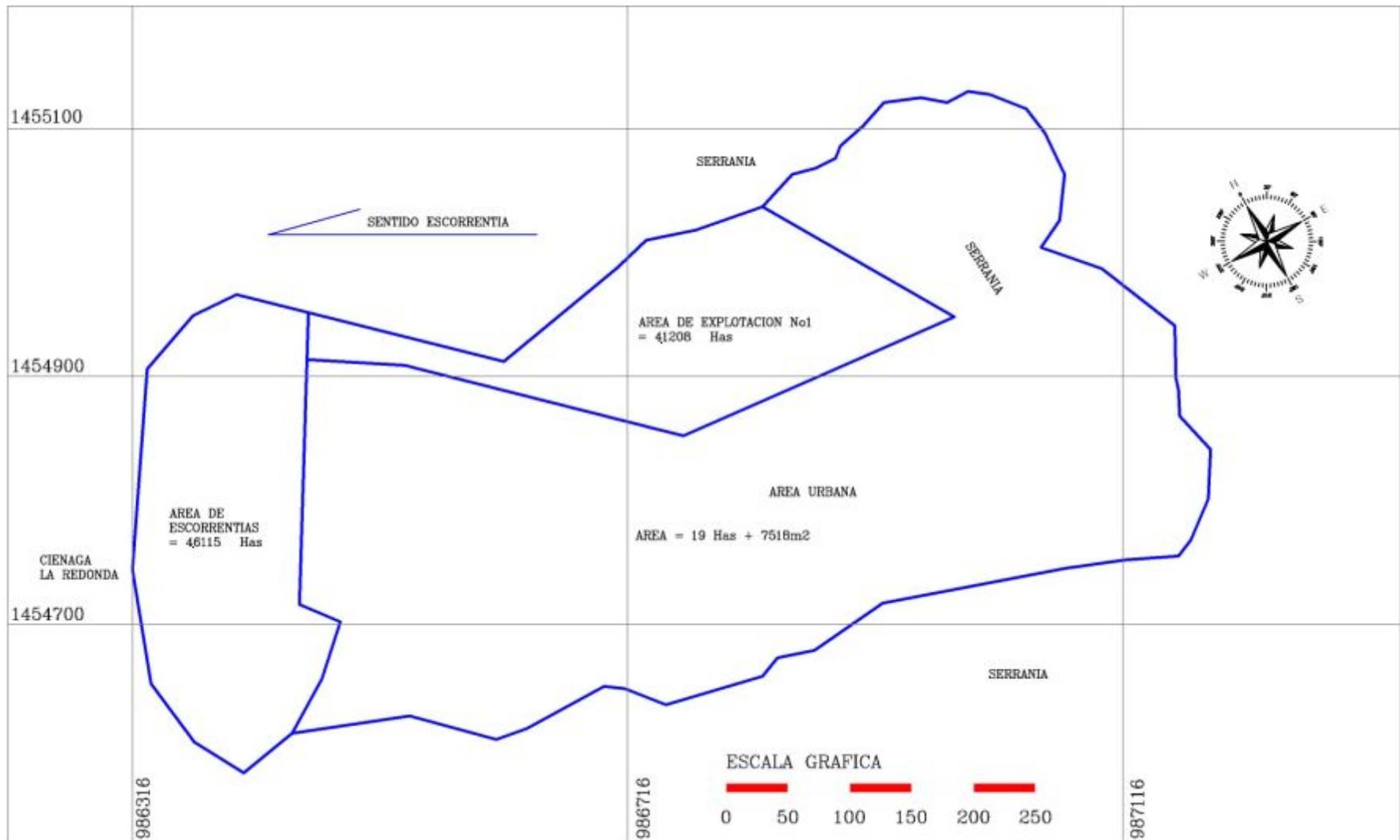
## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

### **5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO**

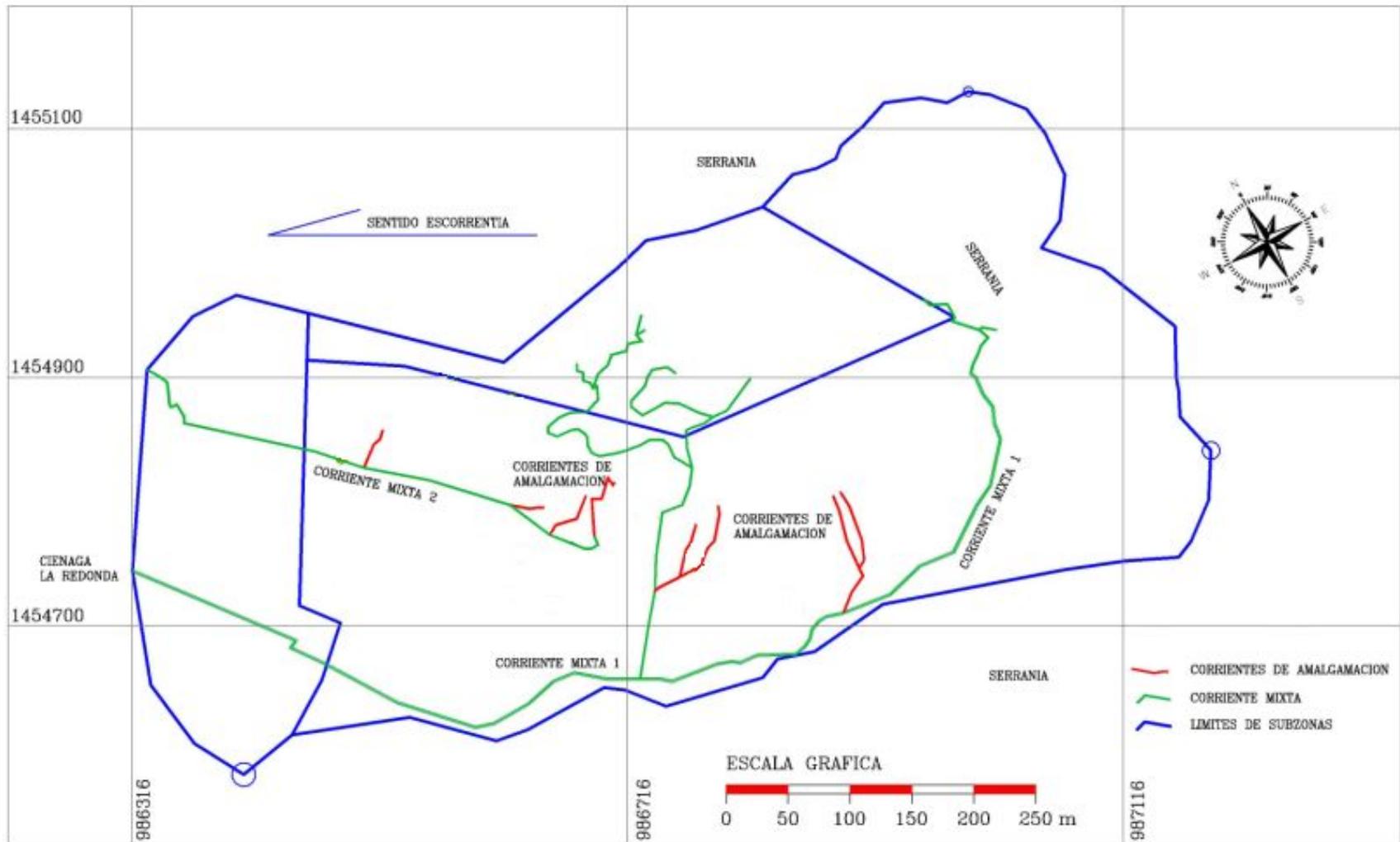
La zona de estudio esta ubicada en Barranco de Loba, municipio ubicado en el sur de Bolívar, Colombia. Es una comunidad con aproximadamente 600 habitantes, dedicados en su mayoría a la explotación artesanal de oro, la cual se desarrolla dentro de su casco urbano, generando concentraciones elevadas de mercurio en suelo debido a las corrientes acuosas que salen de los molinos de amalgamación y a la quema mercurio para purificación de oro; valores que incluso superan los 30000 ng/g HgT en suelos aledaños a las corrientes procedentes de los molinos.

En mina Santa Cruz, se han identificado tres subzonas (figura 1): Sector de explotación, sector urbano y sector aledaño a la ciénaga La redonda, que se interconecta con el río Magdalena. La extensión total de la zona es de 28.4 has. La explotación en la mina se inicia en la zona montañosa con el lavado de las rocas, de las cuales se desprende un material de menor granulometría que es llevado a los molinos de amalgamación donde es mezclado con mercurio, cal y agua. El agua procedente de los molinos (corrientes de amalgamación) pasa por la zona urbana y son vertidos a la ciénaga La Redonda, gracias a dos grandes canales artificiales que recogen aguas mixtas (aguas domesticas y de lavado de las roca), como se observan en la figura 2.

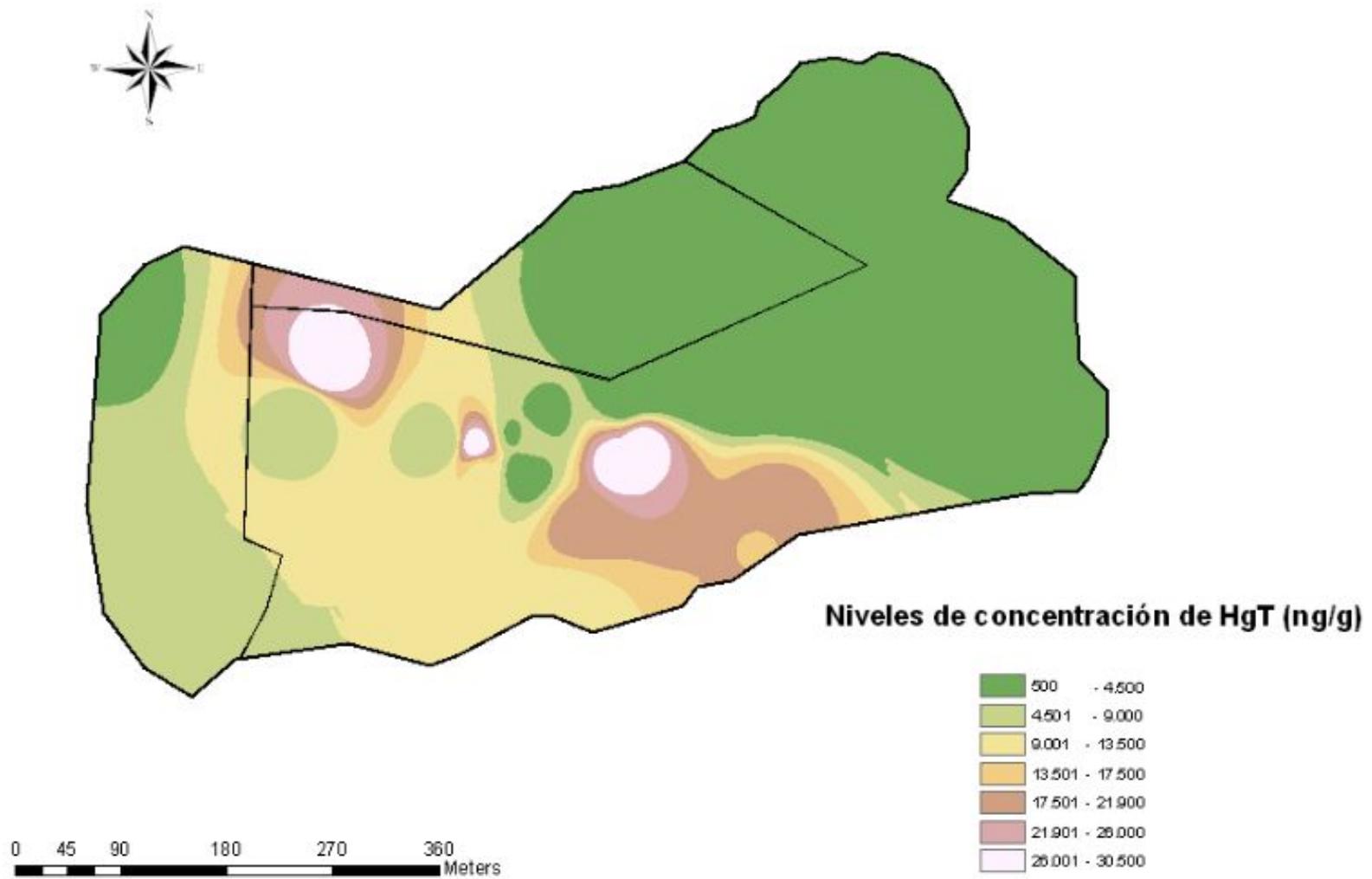
El mapa de la zona, con las diferentes subzonas y niveles de contaminación de mercurio del suelo, se muestran en la figura 3, elaborada en conjunto con Pérez Libia y Domínguez Luis, en sus proyectos de grado de maestría en ciencias ambientales (En ejecución-SUE Caribe) denominados: Inventario de plantas fitorremediadoras de mercurio en mina Santa Cruz, departamento de Bolívar, y Caracterización de suelos, sedimentos y agua de Mina Santa Cruz Sur de Bolívar.



**Figura 1.** Mapa de Subzonas de mina Sata Cruz- sur de Bolívar



**Figura 2.** Mapa de corrientes mixtas (aguas domesticas y de lavado de las rocas) y de corrientes de amalgamación (Aguas que salen de los molinos donde de amalgama el mercurio con oro)



**Figura 3.** Mapa de niveles de concentración de Hg en suelos de Mina Santa Cruz

## 5.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS DE ESTUDIO

Para el estudio de acumulación de HgT en condiciones controladas se tomaron 3 muestras de suelo. La muestra de suelo menos contaminada se recolectó en mina Santa Cruz a los 8° 42' ,4" N - 74° 17' 53,5" E, siendo una zona poblada de árboles y plantas frutales, así como diferentes tipos de pastos (ver figura 5a). La muestra de suelo más contaminada fue tomada en un punto ubicado a 8° 42' 42,9" N - 74° 42' 15,8" E, siendo esta una zona afectada por las corrientes contaminadas con mercurio, con poca vegetación, destacándose sólo la presencia de pastos (Ver figura 5b). La muestra de suelo control, fue tomada en zona rural del municipio de Sincelejo.



**Figura 5. a)** Lugar de muestra del suelo menos contaminado **b)** Lugar de muestra del suelo más Contaminado

A las muestras recolectadas se les determinó la concentración de HgT, el porcentaje de materia orgánica y pH. Los resultados se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Características de los suelos recolectados

Tipo de suelo	pH	% M. Orgánica	Hg Total ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )
Suelo menos contaminado	4.51	3.22	4247,6
Suelo más contaminado	3.71	1.03	6907,8
Suelo control	7.01	3.15	513.8

El suelo más contaminado presentó una concentración de mercurio total de 6907.8 ng/g, lo que indica que en el sitio recolectado se ha emitido una considerable cantidad de mercurio gracias a la actividad minera propia de la zona. Este valor está por encima del rango de 3 a 4600 ng/g de Hg T en suelos naturales establecido por Steinnes [33], así como de los empleados en estudios reconocidos de fitorremediación como los de Moreno et al [2], quienes trabajaron con suelos contaminados in situ en un rango de 1400 a 4.800 ng/g.

El suelo denominado menos contaminado presentó una concentración relativamente alta, a pesar de ser tomado en la zona boscosa de la mina, lo que indica el alto grado de contaminación que se genera en este sector debido a la actividad minera, en la cual el mercurio se evapora, se traslada y se fija en sitios aledaños por retención del mercurio en la vegetación, o por efecto de las lluvias que lo retornan al suelo. También se observa que el suelo control tomado en la ciudad de Sincelejo presentó un valor de 513.8 ng/g que a pesar de ser bajo, muestra que los suelos alrededor de la ciudad presentan una leve contaminación de mercurio que puede ser debida a fuentes naturales y/o actividades antropogénicas como rupturas de termómetros, barómetros, lámparas de mercurio, etc.

También se observa una relación entre el pH de las muestras y la concentración del mercurio del suelo proveniente de la mina, esto se debe a que la muestra más contaminada se tomó en un sitio erosionado que había sido escavado y generado drenajes ácidos de mina, que por lo general tienen un pH bajo debido a la oxidación de compuestos como la pirita, como establece [41]. El contenido de materia orgánica en los suelos, aunque es baja, era suficiente para el establecimiento de las plantas empleadas en este estudio.

### **5.3 ACUMULACIÓN DE Hg EN TEJIDOS**

Una vez sembradas y desarrolladas las plantas de *Cecropia peltata* en condiciones controladas se obtuvieron las concentraciones en las diferentes partes de la planta en los primeros cuatro meses de crecimiento (Tablas 3 y 4).

**Tabla 3.** Hg Total (ng/g peso seco) en diferentes partes de la planta sin emplear ácido cítrico como agente quelante.

		<b>Raíz</b>	<b>Tallos</b>	<b>Hojas</b>
Suelo altamente contaminado	Mes 1	2996,6 +/- 310,9	253,7 +/- 17,5	402,1 +/- 91
	Mes 2	2110,9 +/- 793,6	240,03 +/- 52,3	526,59 +/- 85,9
	Mes 3	2328 +/- 55,6	145,5 +/- 27,1	260,8 +/- 46,7
	Mes 4	7422,3 +/- 957,6	68,5 +/- 6	128,3 +/- 28,1
	promedio	3714,5	176,9	329,5
Suelo medianamente contaminado	Mes 1	1713,9 +/- 724	221,18 +/- 19,28	281,4 +/- 119,5
	Mes 2	2865,2 +/- 493,9	369,1 +/- 79,81	492,3 +/- 66,09
	Mes 3	1478,9 +/- 319,7	242,3 +/- 75,4	287,8 +/- 101,7
	Mes 4	1747,8 +/- 441,7	159 +/- 67,2	154,7 +/- 52,6
	promedio	2019,3	262,3	304,1

**Tabla 4.** Hg Total (ng/g peso seco) en diferentes partes de la planta empleando ácido cítrico como agente quelante.

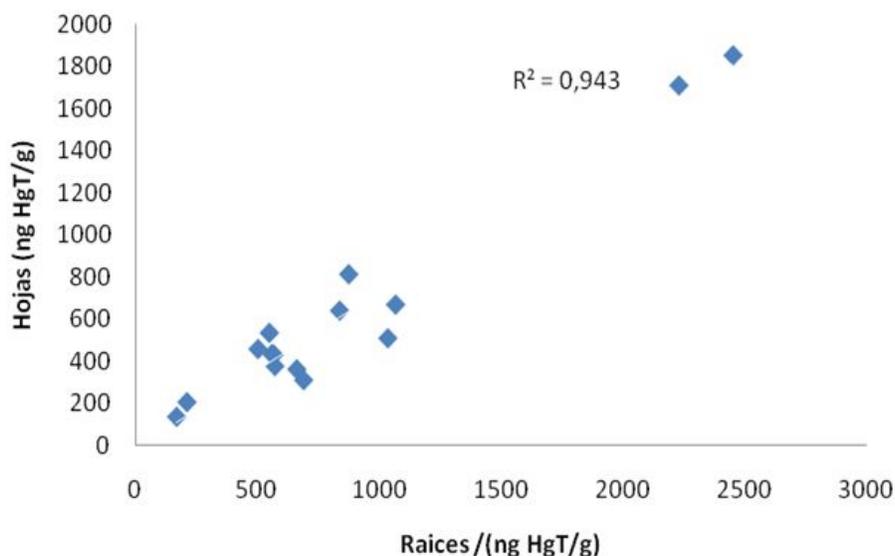
		<b>Raíz</b>	<b>Tallos</b>	<b>Hojas</b>
Suelo altamente contaminado	Mes 1	1954,4 +/- 424,6	267,1 +/- 21	553,2 +/- 97,2
	Mes 2	1975,9 +/- 698,4	450,8 +/- 106,1	599,9 +/- 81,7
	Mes 3	2225,2 +/- 67,4	160,8 +/- 18,9	258,0 +/- 50,4
	Mes 4	5241,3 +/- 982,3	168,0 +/- 74,2	206,4 +/- 39,7
	Promedio	2849,2	261,7	404,4
Suelo medianamente contaminado	Mes 1	714,9 +/- 121	242,6 +/- 27,1	248,4 +/- 105,4
	Mes 2	1044,6 +/- 181,6	393,3 +/- 74,82	601,6 +/- 135,6
	Mes 3	2006,8 +/- 242	150,9 +/- 8	196,7 +/- 36,3
	Mes 4	2257,1 +/- 654,9	76,2 +/- 7,4	129,9 +/- 23,4
	Promedio	1378,5	236,5	300,4

De los valores de ambas tablas se deduce que la parte de la planta de guarumo que más acumula Hg es la raíz, seguida de las hojas y finalmente el tallo. Este comportamiento coincide con el encontrado en las muestras de raíces, tallos y hojas de 15 árboles de *Cecropia peltata* de diferente tamaño establecidas en la Mina Santa Cruz, como se muestra en la tabla 5.

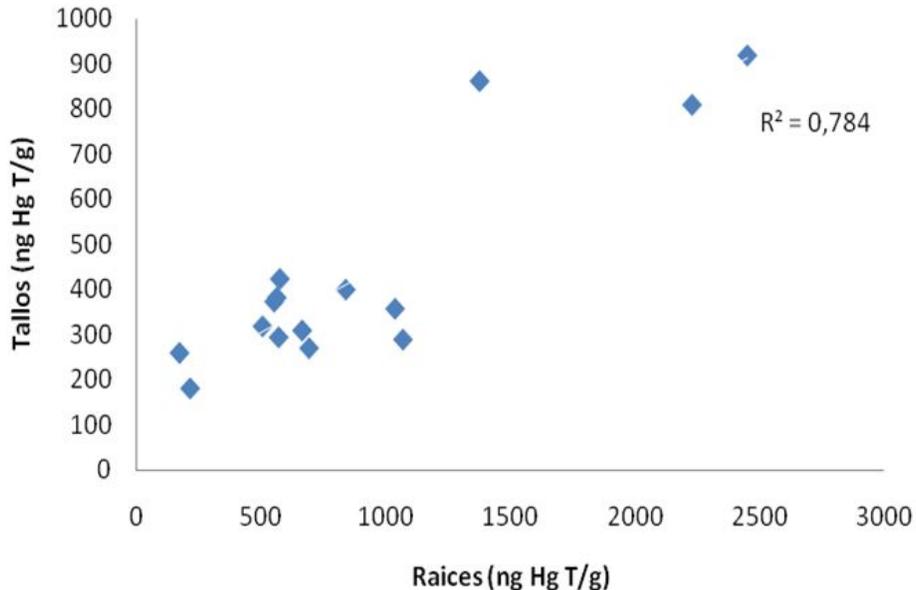
**Tabla 5.** Concentración de HgT (ng HgT/g peso seco) en raíces, tallos y hojas de árboles de guarumo establecidas en mina Santa Cruz.

No del árbol de guarumo	Hojas (ng HgT/g)	Tallos (ng HgT/g)	Raíces (ng HgT/g)
1	136,6	259,7	170,8
2	206,4	181,4	213
3	310,8	270,4	691
4	362,2	309,3	663,1
5	377,5	423,2	573,4
6	431,3	294,3	568,9
7	434,7	381,9	561,1
8	458,4	318,7	504,2
9	509,7	357,4	1036,3
10	535,1	372,9	550,6
11	640,3	399,8	838,6
12	669,3	289,4	1068,1
13	813,9	860,4	876
14	1710,4	807,9	2229,2
15	1853,1	917	2451,2
Prom	630	429.6	866.4

Al correlacionar la concentración de Hg T en raíces con la obtenida en tallos y hojas, esta presenta altos valores de  $R^2$ , indicando una relación directa entre dichas concentraciones como se muestra en las figuras 6 y 7.



**Figura 6.** Correlación entre la concentración de Hg Total entre raíces y hojas



**Figura 7.** Relación entre la concentración de Hg Total entre raíces y tallos

Este comportamiento se debe a que las raíces están expuestas directamente al mercurio presente en el suelo, y sobre ellas se adhiere una gran cantidad de Hg en las paredes celulares para así evitar efectos tóxicos en las partes superiores de la planta, en especial el desarrollo de necrosis y clorosis en hojas. Este proceso se realiza a través de la secreción de fitosideróforos tales como las fitoquelatinas, a las cuales se une fácilmente el mercurio por su contenido de aminoácidos azufrados como cisteína, haciéndolo no disponible para su translocación al tallo, como lo indican autores en otros estudios [74 y [75].

La mayor concentración en hojas que en tallos se debe a que las primeras son el receptor final del metal en la planta, donde cambia su estado de oxidación de  $Hg^{2+}$  a  $Hg^0$ , es fitoquelado y acumulado en las vacuolas como mecanismo de resistencia toxica como lo establece Moreno et al [2]; además, las hojas también pueden capturar el  $Hg^0$  presente en el aire por medio de sus estomas. Cabe destacar que las hojas se renuevan continuamente, lo que conlleva a que la concentración de las nuevas sea diferente a la de las antiguas, asimismo, gran parte del metal que llega a las hojas puede ser fitovolatilizado, lo que implica que

no todo el contaminante que llega a esta parte de la planta es acumulado en ella. Por otra parte, la baja concentración en tallo se debe a que este no tiene como propósito acumular el metal, mas bien su función es transportarlo a las partes altas de la planta, además, la misma retención ocasionada por las raíces limita el transporte del Hg hacia estos tejidos y por ende la concentración de Hg que se pueda encontrar en los tallos.

Por otra parte, las concentraciones de HgT en *Cecropia peltata* son más altas que las encontradas en un gran número de especies presentes en sitios altamente contaminados alrededor del mundo. Un caso específico es el distrito minero de Almaden, España, que a pesar de que el suelo tiene en promedio 330 mg Hg T/kg [85], mucho más alta de la considerada en este estudio, alrededor de la mitad de las especies de plantas presentes tienen menor concentración y biomasa que el guarumo. Además la *Cecropia peltata* presentó concentraciones cercanas a plantas denominadas hiperacumuladoras como *Brassica juncea*, aunque esta última se evaluó en suelos con contenido de HgT menores que los de este estudio, pero la *Brassica juncea* presenta menor biomasa que la del guarumo. Esto nos indica que los comparativos entre plantas acumuladoras requieren de una valoración más completa que incluya la concentración de Hg Total, biodisponible, características edáficas y fisicoquímicas del suelo. Sin embargo se puede establecer que el guarumo es una planta significativamente acumuladora de Hg, debido a la alta concentración del contaminante en una mayor biomasa que en comparación de otras plantas acumuladoras y al hecho de no presentar efectos fitotóxicos considerables tanto en laboratorio como en campo.

Para determinar la Influencia del grado de contaminación del suelo, la presencia de ácido cítrico como agente quelante y el tiempo de crecimiento de la planta sobre la concentración de Hg total en las diferentes partes de la planta se realizó un anova factorial, cuyos resultados de muestran en las tablas 6,7 y 8.

**Tabla 6.** Análisis de varianza para la concentración de Hg total en raíces

Fuente	Suma de cuad.	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Aplicación de quelante	6.0083 E6	1	6.0083 E6	3.18	0.0819
B: Tiempo	3.80323 E7	3	1.26774 E7	6.71	0.0008*
C: Tipo de Suelo	3.09256 E7	1	3.09256 E7	16.36	0.0002*
RESIDUOS	7.94041 E7	42	1.8905 E6		
TOTAL (CORREGIDO)	1.5437 E8	47			

**Tabla 7.** Análisis de varianza para la concentración de Hg total en hojas

Fuente	Suma de cuad.	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Aplicación de quelante	8810.21	1	8810.21	0.52	0.4739
B: Tiempo	1.15409 E6	3	384698	22.80	0.0000*
C: Tipo de Suelo	37113.0	1	37113.0	2.20	0.1455
RESIDUOS	708566	42	1.8905 E6		
TOTAL (CORREGIDO)	1,91E+11	47			

**Tabla 8.** Análisis de varianza para la concentración de Hg total en tallos

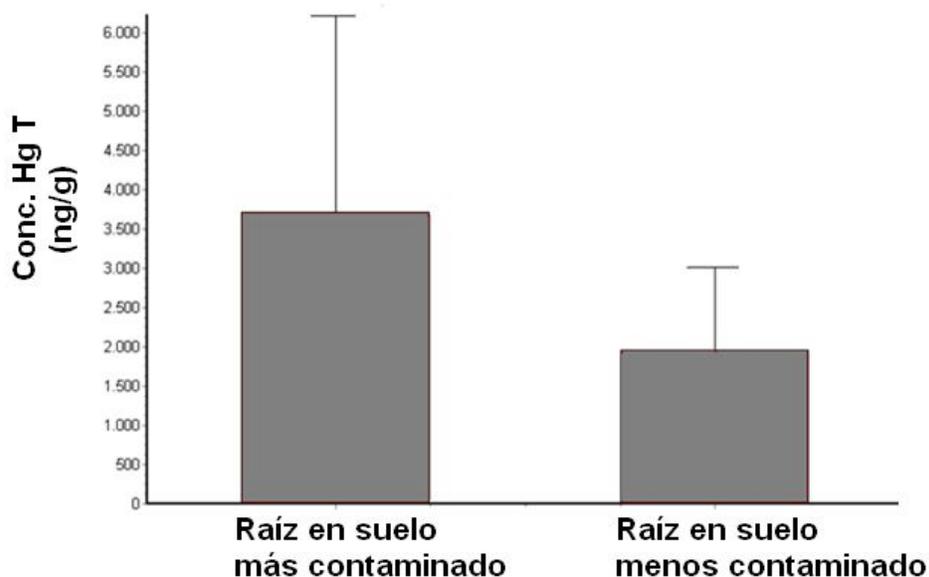
Fuente	Suma de cuad.	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Aplicación de quelante	14390.2	1	14390.2	1.76	0.1915
B: Tiempo	448398	3	149466	18.31	0.0000*
C: Tipo de Suelo	212.1	1	212.1	0.03	0.8727
RESIDUOS	342902	42	8164.32		
TOTAL (CORREGIDO)	805901	47			

La aplicación de ácido cítrico no contribuye al incremento en la concentración de Hg en las diferentes partes de la planta, esto se debe en gran medida a que un alto porcentaje del Hg se encuentra biodisponible gracias a la contaminación continua con Hg<sup>0</sup> generada en los procesos de amalgamación de oro realizada en Mina Santa Cruz, al bajo pH de los suelos que facilita la movilidad del contaminante y a la poca concentración de materia orgánica que provoca una disminución de transformaciones que unan con mayor intensidad las especies de

mercurio al suelo. Además las condiciones climáticas que implican alta humedad y temperatura presentes en el Sur de Bolívar favorecen la mineralización del ácido cítrico y por ende su acción quelante.

Cafer et al [86], determinó incrementos de acumulación de HgT en *Helianthus annuus* de sólo 0.65 mg en su ciclo de crecimiento, empleando concentraciones similares de ácido cítrico a las utilizadas en este estudio, lo que indica que las características ambientales y del suelo determinan la influencia del quelante sobre la tasa de remediación. Además el mismo autor reportó efectos fitotóxicos como disminución de las tasas de crecimiento y generación de biomasa al emplear concentraciones mayores de 1g/Kg de suelo.

Para determinar diferencias significativas entre las concentraciones de Hg T en raíces desarrolladas en suelos de diferente grado de contaminación, se aplicó un *t*-test, que arrojó un valor de  $p < 0.05$ , Indicando que las raíces de las plantas sembradas en el suelo más contaminado presentan mayor acumulación de Hg T (ver figura 8), esto se debe a que las raíces expuestas a una concentración más alta de Hg en el suelo, están en capacidad de retener mayor cantidad del metal, para así evitar efectos tóxicos en las partes superiores de la planta.

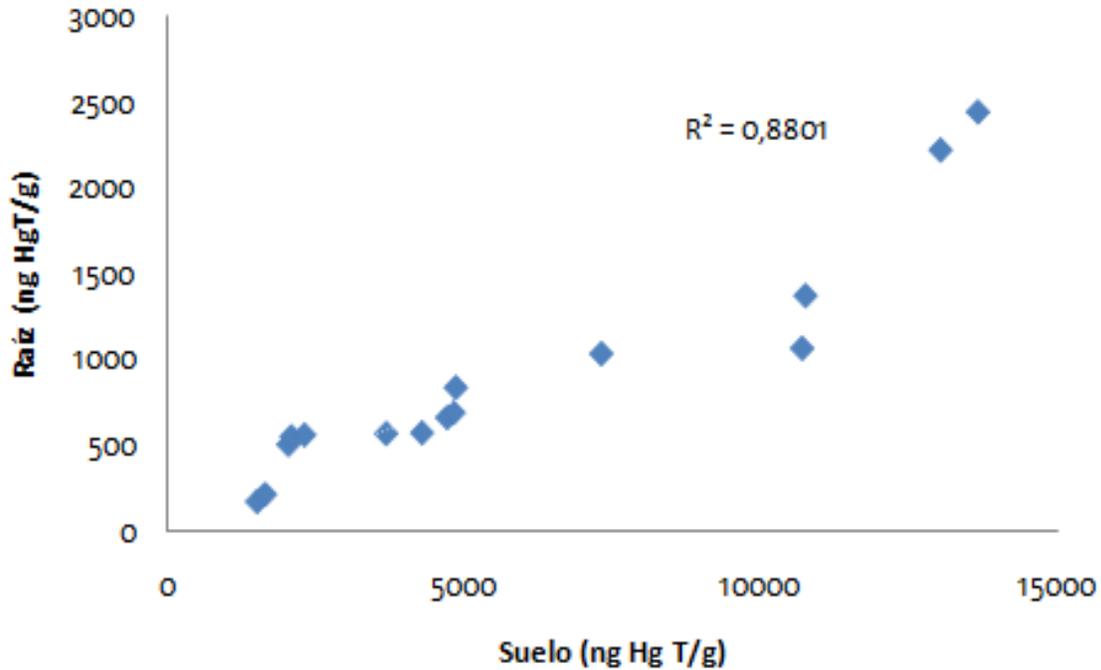


**Figura 8.** Comparación de la concentración de Hg T en raíces de guarumos desarrollados en suelos de diferente grado de contaminación

Las concentraciones de HgT en raíces de los árboles de *Cecropia peltata* establecidos en Mina Santa Cruz es mayor a medida que el suelo de sus rizósferas tiene mayor grado de contaminación, como lo indica la tabla 9 y la figura 7. Este comportamiento confirma la relación que hay en campo y en condiciones de invernadero, entre la concentración de mercurio en raíces y el grado de contaminación del suelo procedente de la zona de estudio.

**Tabla 9.** Concentración de Hg total en raíces y en suelo de la rizósfera

No del árbol de guarumo	Raíces (ng HgT/g)	Suelo de la rizósfera (ng HgT/g)
1	170,8	1487,5
2	213	1624,5
3	504,2	2016,2
4	550,6	2070,9
5	561,1	2287,7
6	568,9	3669,6
7	573,4	4276,4
8	663,1	4699,4
9	691	4809,8
10	838,6	4846,9
11	1036,3	7305,5
12	1068,1	10697,6
13	1376	10753,6
14	2229,2	13036,7
15	2451,2	13668,6



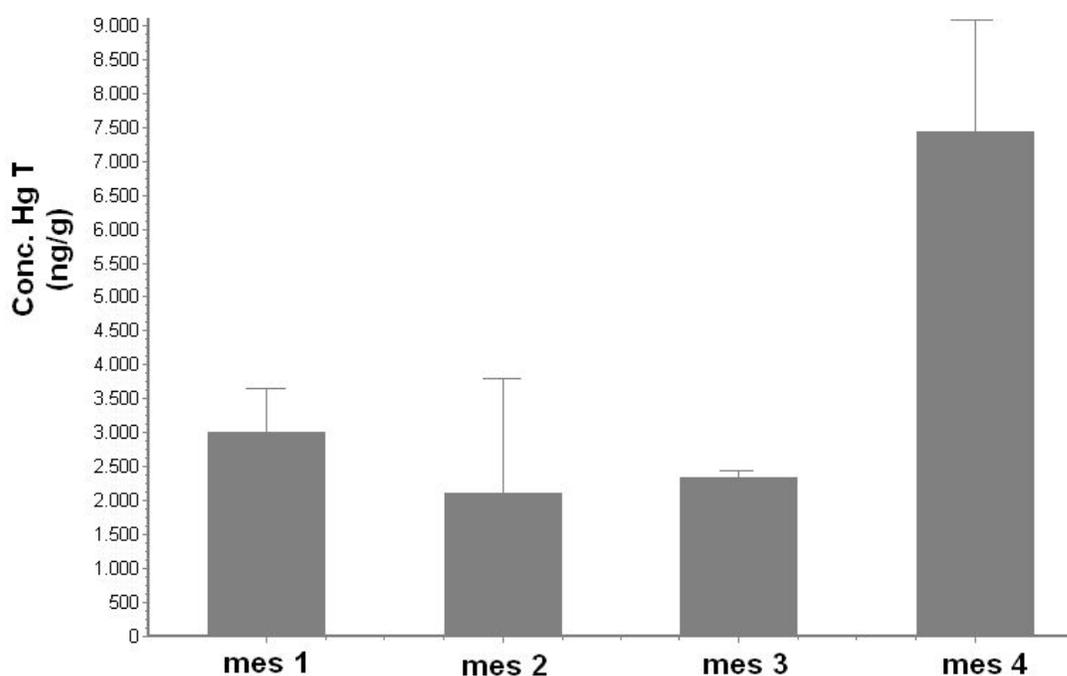
**Figura 9.** Correlación entre la concentración de Hg T en raíces de guarumo y el grado de contaminación del suelos de sus rizósferas en campo.

A diferencia de la raíz, en condiciones experimentales no se observa que la concentración de HgT en hojas y tallos de árboles de *Cecropia peltata* este relacionada con el grado de contaminación del suelo donde están establecidos (tablas 7 y 8), mientras que en campo si. Esto puede suceder en etapas tempranas de crecimiento como las consideradas en la fase experimental, donde el tiempo de exposición al contaminante no es lo suficientemente significativo para presentar diferencias en las cantidades acumuladas.

#### 5.4 CINÉTICA DE ACUMULACIÓN

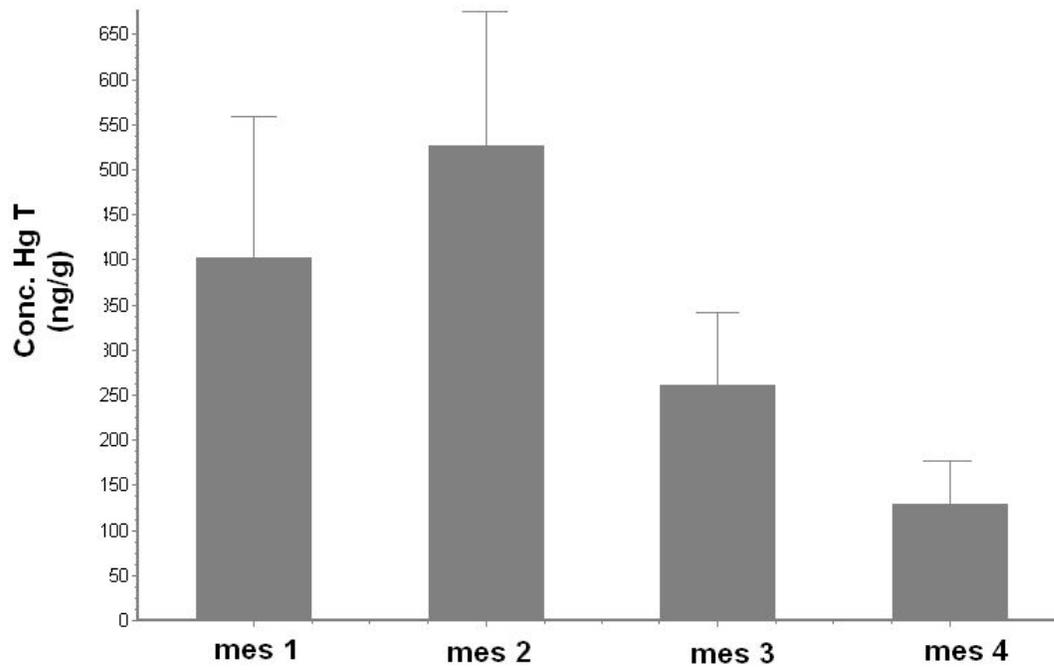
La cinética de acumulación de mercurio en raíces indica que en el cuarto mes de crecimiento de las plantas hay diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.01$ ) con respecto a la concentración de HgT en los tres meses anteriores (figura 8), esto muestra que el tiempo de exposición favorece el aumento de la

concentración del contaminante en las raíces a partir del cuarto mes de crecimiento de la planta, en especial por la retención continua de Hg en su epidermis. Incluso, los niveles de Hg T al final del tratamiento son cercanos a los de plantas hiperacumuladoras como la *Brassica Juncea*, que esta en capacidad de acumular hasta 9020 ng/g al final de su crecimiento [2]. Y a pesar que ésta última acumula esta cantidad en un suelo menos contaminado que los empleados en este estudio, el guarumo tiene mayor biomasa en sus raíces, lo que posibilita una mayor acumulación de HgT en sus tejidos.

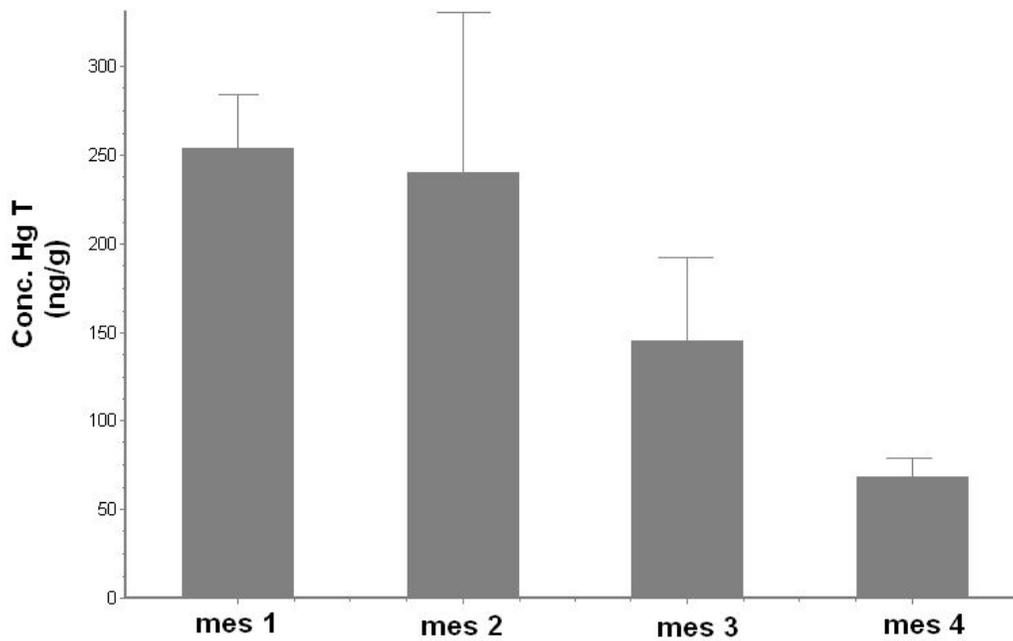


**Figura 10.** Cinética de acumulación en raíces

El comportamiento de la cinética de acumulación en tallos y raíces es similar (figuras 8 y 9). Los dos primeros meses no presentan diferencias significativas, pero a partir del tercer mes, la concentración de Hg T decrece considerablemente. Esto se debe a la mayor capacidad de retención de Hg por parte de la raíz, pero en especial a la ganancia considerable de biomasa por parte de tallos y raíces, lo que reduce considerablemente la concentración del contaminante.



**Figura 11.** Cinética de acumulación en hojas



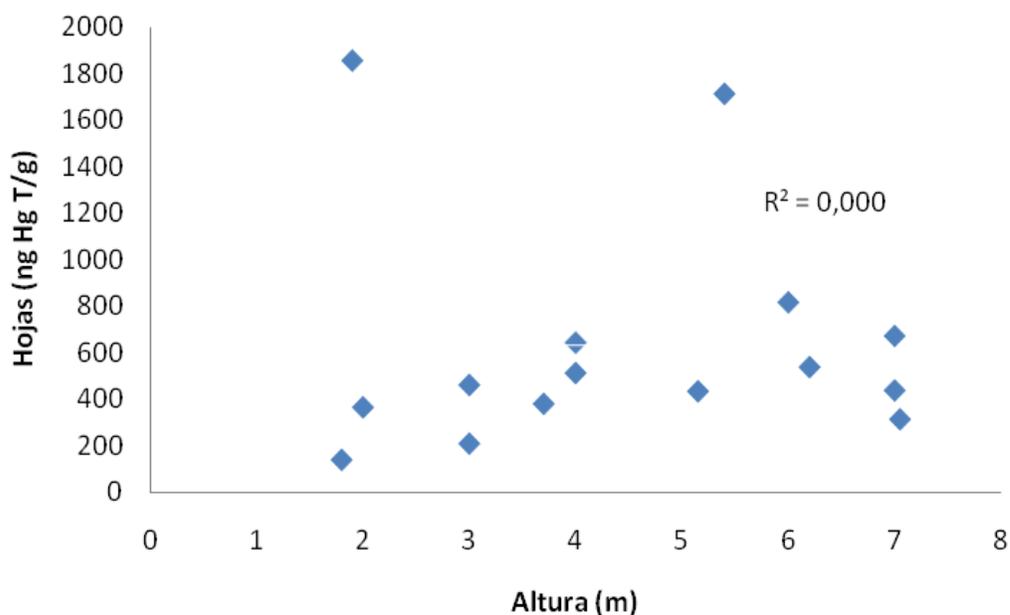
**Figura 12.** Cinética de acumulación en tallos

Para confrontar los resultados anteriores, se relacionó la concentración de HgT en raíces, tallos y hojas de los guarumos establecidos en Mina Santa Cruz con su altura; esta última variable como indicador de la edad de los árboles (tabla 10 y figura 13).

**Tabla 10** Concentración de mercurio ( ng Hg T/g peso seco) y altura de arboles establecidos en Mina Santa Cruz

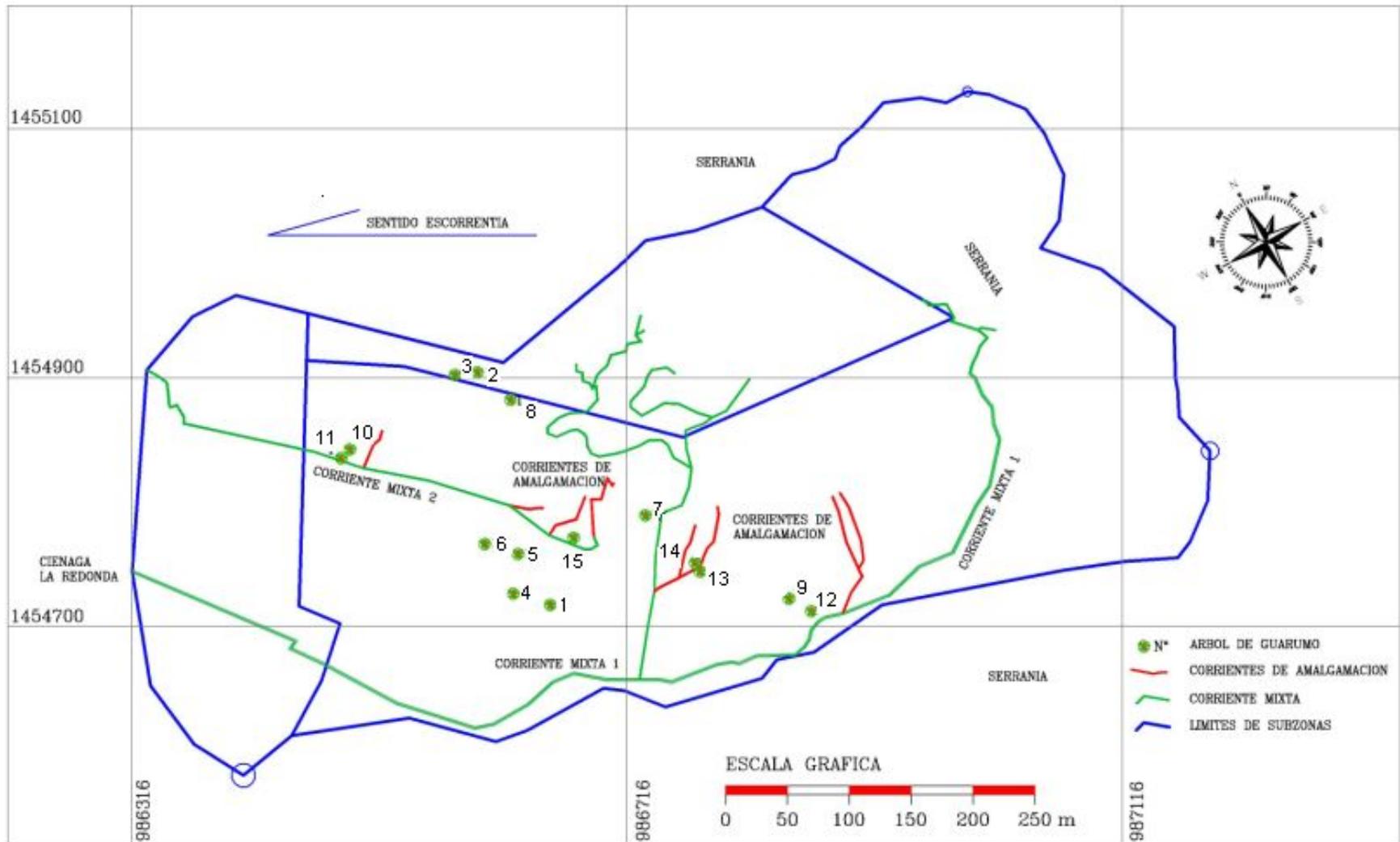
No del árbol de guarumo	Altura (m)	Hojas (ng HgT/g)	Tallos (ng HgT/g)	Raíces (ng HgT/g)
1	1,8	136,6	259,7	170,8
2	3	206,4	181,4	213
3	7	310,8	270,4	691
4	2	362,2	309,3	663,1
5	7	377,5	423,2	573,4
6	5.15	431,3	294,3	568,9
7	6	434,7	381,9	561,1
8	3.7	458,4	318,7	504,2
9	3	509,7	357,4	1036,3
10	6.2	535,1	372,9	550,6
11	4	640,3	399,8	838,6
12	4	669,3	289,4	1068,1
13	5.4	813,9	860,4	876
14	7.05	1710,4	807,9	2229,2
15	1.9	1853,1	917	2451,2
Prom		630	429.6	866.4

Como se observa, la altura de los arboles de *Cecropia peltata* establecidas en mina Santa Cruz no guarda ninguna relación con la concentración de mercurio en tallos raíces y hojas. Esto se debe principalmente a que la concentración de Hg T en el guarumo esta influenciada principalmente por el grado de contaminación presente en el suelo; y como la contaminación en la zona es tan dispersa, los árboles seleccionados no han estado expuestos a concentraciones similares de mercurio, más bien existe una gran diferencia entre plantas tomadas en distintos sectores de la mina. La figuras 14 y 15 indican donde se tomaron las 15 muestras de guarumo y su relación con los perfiles de contaminación de la zona.

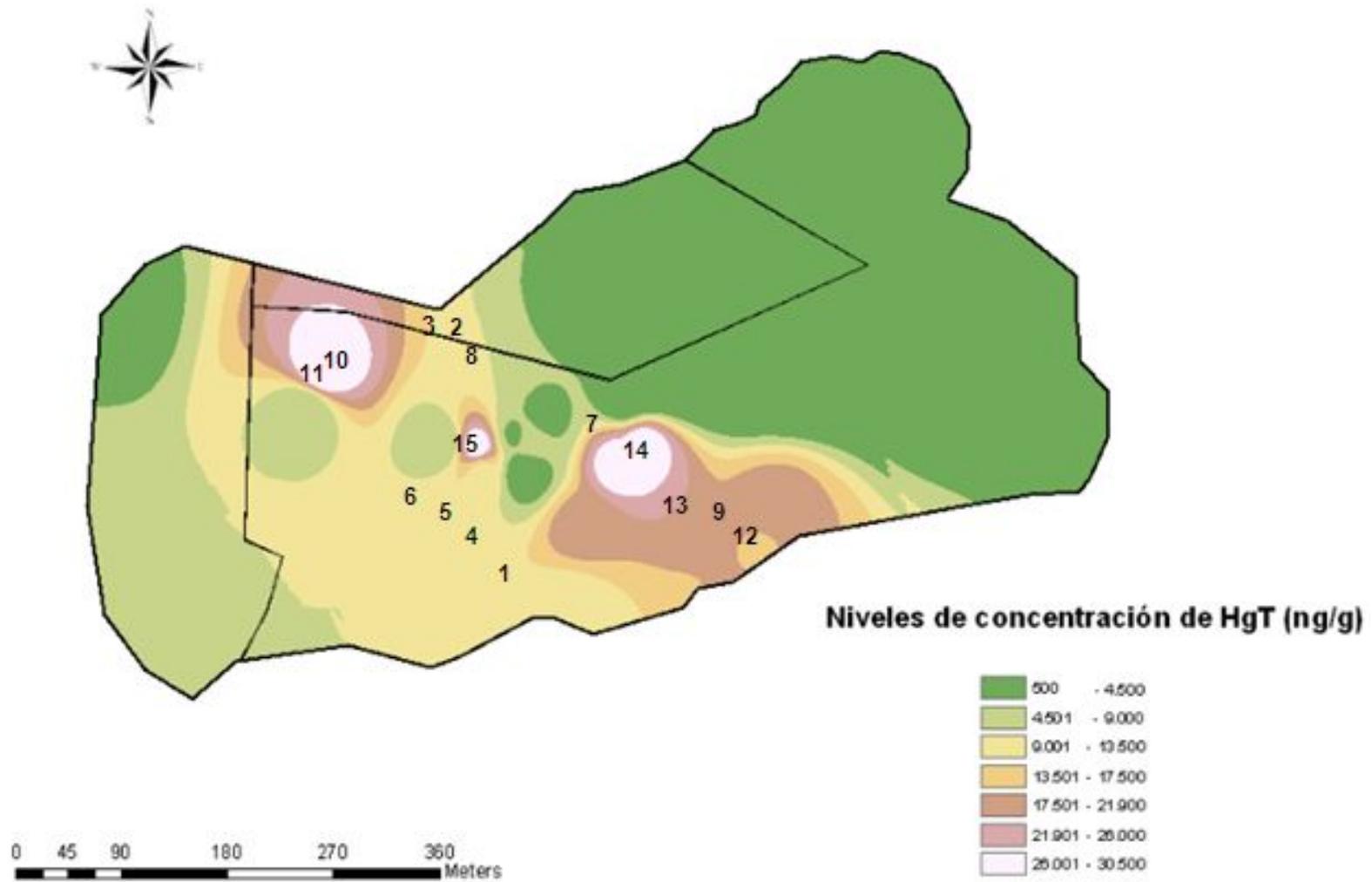


**Figura 13.** Correlación entre altura de árboles y concentración de mercurio (ng Hg T/g) en raíces.

De los mapas se observa que los árboles que presentan mayor contaminación en campo son los que están ubicados en cercanías a las zonas de mayor grado de contaminación, la cual esta influenciada principalmente por la presencia, caudal y convergencia de corrientes provenientes de los molinos de amalgamación, donde hay zonas de superan los 30000 ng Hg T/g. Por otra parte, el guarumo esta presente en todos los niveles de contaminación de la zona, sin presentar efecto fitotoxico considerable, lo que indica la gran capacidad que tiene esta especie para adaptarse a sitios degradados y con concentraciones de mercurio que son letales para un significativo número de especies vegetales; además su gran biomasa, raíces expansivas le permiten estabilizar y remediar suelos in situ , puesto que las concentraciones de mercurio total encontradas en el suelo de sus rizósferas es menor que la que tienen los suelos aledaños.



**Figura 14.** Sitios de tomas de muestras de árboles de guarumo en relación a las corrientes mixtas y de amalgamación



**Figura 15.** Sitios de tomas de muestras de árboles de guarumo en relación los niveles de concentración de Hg en suelo

## 5.5 CAPACIDAD REMEDIADORA

Para determinar la capacidad que posee *Cecropia peltata* para remediar suelos contaminados con mercurio, procedentes de la mina Santa Cruz, en su etapa inicial de crecimiento, se analizó la concentración de HgT en suelos de diferente grado de contaminación antes y después cuatro meses de crecimiento de los árboles. Los resultados se muestran en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Capacidad remedidora de Hg T de *Cecropia Peltata*

Aplicación de quelante	Tiempo Mes	Tipo de suelo	
		Más contaminado (ng/g Hg Total)	Menos contaminado (ng/g Hg T)
Con ácido cítrico	0	6907,8 +/- 82.1	4247,6 +/- 21.1
	4	5095,4 +/-782.9	3177,4 +/- 187.5
Tasa de remediación		26,2%	25,2%
Sin ácido cítrico	0	6907,8 +/- 82.1	4247,6 +/- 21.1
	4	4624,3 +/-1071.5	3579,0 +/-358.6
Tasa de remediación		33,1%	15,7%

De la tabla anterior se observa las altas tasas de remoción del contaminante en un tiempo relativamente corto. Este fenómeno esta favorecido por la gran acumulación que genera el guarumo, y el inusual porcentaje de Hg biodisponible que presentan los suelos, en especial el más contaminado (Tabla 12).

**Tabla 12.** Porcentaje de mercurio biodisponible en los suelos contaminados

Aplicación de quelante	Tiempo Mes	Tipo de suelo	
		Más contaminado (ng/g peso seco)	Menos contaminado (ng/gpeso seco)
Con ácido cítrico	0	15,4 +/- 2,3	0,644 +/- 0,2
	4	5,9 +/- 1,7	0,633 +/- 0,1
Sin ácido cítrico	0	15,4 +/- 2,3	0,644 +/- 0,2
	4	11,3 +/- 6,5	1 +/- 0,4

La alta disponibilidad de mercurio en los suelos se debe a la continua emisión del contaminante en los procesos de extracción de oro en mina Santa Cruz, al bajo pH y a la poca de materia orgánica de los suelos. Es así que los porcentajes de mercurio biodisponible encontrados en este estudio están por encima de la mayoría de investigaciones de referencia; incluso en zonas con mayor grado de contaminación como es el caso de Almaden, España, donde el punto de mayor porcentaje de biodisponibilidad se sitúa en el 6,4%, valor que es menor que los encontrados en el suelo más contaminado de Mina Santa Cruz.

El análisis estadístico descrito en la tabla 13 muestra que el grado de contaminación y el tiempo transcurrido del tratamiento tienen un efecto significativo sobre la concentración de Hg total en suelos. También indica que la aplicación de ácido cítrico no genera mayores tasas de remoción del suelo.

**Tabla 13.** Análisis de varianza para la concentración de Hg total en suelos

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Aplicación de quelante	14390.2	1	14390.2	1.76	0.1915
B: Tiempo	448398	3	149466	18.31	0.0000*
C: Tipo de Suelo	212.1	1	212.1	0.03	0.0000*
RESIDUOS	342902	42	8164.32		
TOTAL (CORREGIDO)	805901	47			

De igual manera, el anova factorial sobre el grado de biodisponibilidad del Hg indicó que la única variable que tiene influencia sobre ella es el grado de contaminación del suelo; así, entre más alto el grado de contaminación mayor Hg biodisponible hay, como indica la tabla 14. Esto reitera la gran capacidad que tiene la *Cecropia peltata* para crecer en sitios erosionados, con historial minero y concentraciones muy altas de Hg disponibles como las encontradas en mina santa Cruz, sin presentar efectos fitotoxícos considerables.

Tabla 14. Análisis factorial para el porcentaje de Hg biodisponible.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Aplicación de quelante	12,3934	1	12,3934	0,50	0.4890
B: Tiempo	65,8674	1	65,8674	2,64	0.1198
C: Tipo de Suelo	446,098	1	446,098	17,88	0.0004*
RESIDUOS	498,946	20	24,9473		
TOTAL (CORREGIDO)	1023,3	23			

## 6. CONCLUSIONES

1) La *Cecropia peltata* es una especie que acumula una cantidad considerable de Hg en sus tejidos, siendo la raíz la parte de la planta que presenta mayor concentración de Hg total, seguida de las hojas y finalmente tallos. La capacidad de acumulación en las raíces está relacionada con el mayor grado de contaminación de los suelos y esta se va incrementando a través del tiempo de crecimiento del guarumo, en virtud a la mayor cantidad de contaminante que es retenido en su epidermis como defensa a los efectos tóxicos adversos que puede generar el mercurio en las partes superiores de la planta.

2) Las tasas de remoción de Hg T en suelo estuvieron entre 15.7% y 33.7 %, en cuatro meses de crecimiento de la planta, lo que implica que esta especie tiene una significativa capacidad para ser empleada en fitorremediación de suelos contaminados considerados en este estudio. Y al igual que en la acumulación del contaminante en tejidos, las variables de mayor influencia en las tasas de remoción del suelo son el tiempo de tratamiento y el grado de contaminación del suelo. También cabe destacar que el ácido cítrico no contribuye a una mayor acumulación en tejidos ni remoción de Hg del suelo contaminado.

3) El guarumo puede crecer en suelos erosionados, ácidos, con bajos niveles de materia orgánica y con concentraciones de mercurio alrededor de 30000 ng HgT /g, así con porcentajes de mercurio biodisponible por encima de 15 %, sin presentar efectos tóxicos considerables, condiciones que serían letales para muchas especies vegetales, por lo que se establece que el guarumo es una especie de alta resistencia tóxica a mercurio; que además adquiere una gran biomasa en corto tiempo que le permite acumular y remediar suelos contaminados como ocurre naturalmente en mina santa cruz, donde la concentración de Hg del suelo de las rizosferas donde están establecidos los arboles de *Cecropia peltata* es más baja que la de los suelos colindantes.

## **7. RECOMENDACIONES**

Se deben realizar nuevos estudios de capacidad fitorremediadora con otras especies presentes en la zona de explotación aurífera colombiana, para así tener un inventario de plantas acumuladoras que pueda ser empleada para remediar suelos contaminados con mercurio, en especial aquellas con historial minero.

Se deben considerar estudios de acumulación de Hg en especies frutales y tubérculos de gran demanda alimenticia como yuca y ñame, debido a que estas son cultivadas en cercanías a los focos de contaminación que son los molinos de amalgamación.

Se deben implementar con prontitud estrategias de remediación de los suelos contaminados como los presentes en mina Santa Cruz, los cuales tienen sitios específicos que están alcanzando concentraciones cercanas a 30 p.p.m, valor que esta por encima muchos reportes de orden internacional. Además se debe pensar en estrategias de remediación combinadas debido a la gran cantidad de Hg biodispobible encontrada, lo que pone en riesgo a la población y ecosistemas circunvecinos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. ISLAM, E., *et al.* (2007). Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. *Journal of Zhejiang University*. 8: 1-13
- [2]. MORENO, F., *et al.* (2005). Mercury volatilisation and phytoextraction from base-metal mine tailings. *Environmental Pollution*. 136: 341-352.
- [3]. SALT, D., *et al.* (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio-Technology*. 13:468–474
- [4]. PRABHA, K., Loretta, L. (2007). Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants. *Water air soil pollution*. 76: 450–459.
- [5]. GRIGAL, D. (2003). Mercury Sequestration in Forests and Peatlands: A Review. *Journal Environmental Quality*. 32:393–405.
- [6]. JING, Y., He Z., Yang, X. (2007). Effects of pH, organic acids, and competitive cations on mercury desorption in soils. *Chemosphere*. 05:1-33
- [7]. LOMBI, E., *et al.* (2001). Phytoremediation of Heavy Metal–Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation versus Chemically Enhanced Phytoextraction. *Journals Environmental Quality*. 30:1919–1926
- [8]. UPME (Unidad de Planeación Minera Energética). 2001. Estadísticas minero energéticas. Edición No. 13. Bogotá. pp.220-225
- [9]. OLIVERO, J., Jhonson B. 2002. El lado gris de la minería del oro: La contaminación con mercurio en el norte de Colombia. Editorial universitaria. Colombia pp 40-41
- [10]. MARQUES, I., Micheletto, F. (2001). Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasil botánica*. 24: 79-84.
- [11]. VILLANUEVA, S., Botello A. (1998). Metal pollution in coastal areas of Mexico. *Rev. Environmental contamination toxicology*. 157: 53-94.
- [12]. MANCERA, N., Álvarez, R. (2006). Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. 11: 3 – 23
- [13]. BAUGHMAN, Thomas. (2006). Elemental mercury spills. *Environmental Health Perspectives*. 114: 147-152.
- [14]. EBINGHAUS, R., *et al.* (1999). Natural and anthropogenic mercury sources and their impact on the air-surface exchange of mercury on regional and global scales. *Atmospheric Environment*. 36: 5267-5276

- [15]. GOCHFELD, M. (2003). Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Toxicology Environmental Safety*. (56): 174-179
- [16]. FERGUSSON, J. *The Heavy Elements: Chemistry, environmental impact and health effects*. Primera Edición. Pergamon Press. New York. 1990. p.p. 109-111
- [17]. AMOUROUX, D., *et al.* (1999). Elemental mercury in the atmosphere of a tropical Amazonian forest (French Guiana). *Environmental Science & technology*. 33: 3044-3048.
- [18]. PORCELLA, D., Chu, P., Allan, M. (1996). Inventory of North American mercury emissions to the atmosphere: relationship to the global mercury cycle. *Environmental safety*. 21: 179–190.
- [19]. HINTON, J. (2002). Earthworms as a bioindicator of mercury pollution in an artisanal gold mining community. Cachoeira do Piriá, Brazil. Master thesis. University of British Columbia, Canada: 140
- [20]. HINTON, J., y Veiga, M. (2001). Mercury contaminated sites: a review of remedial solutions. In: *Proceedings of the National Institute of Minamata Disease forum*, Minamata city, Japan: 73-84
- [21]. BRODKIN, E., Copes, R., Mattman, A., Kennedy, J., Kling, R., y Yassi A. (2007). Lead and mercury exposures: interpretation and action. *Canadian Medical Association*. 176: 59-63
- [22]. CANUEL, R., *et al.* (2002). New evidence on variations of human body burden of methylmercury from fish consumption. *Environmental Health Perspectives*. 110:859–864
- [23]. DE BURBURE, C., *et al.* (2006). Renal and Neurologic Effects of Cadmium, Lead, Mercury, and Arsenic in Children: Evidence of Early Effects and Multiple Interactions at Environmental Exposure Levels. *Environmental Health Perspectives*. 114:584–590
- [24]. TRASANDE, L., *et al.* (2005). Public Health and Economic Consequences of Methyl Mercury Toxicity to the Developing Brain. *Environmental Health Perspectives*. 113:590–596
- [25]. DWAYNE, J., *et al.* (2002). Mercury Induces Cytotoxicity and Transcriptionally Activates Stress Genes in Human Liver Carcinoma (HepG2) Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 3: 965-984
- [26]. OZUAH, P. (2001). Folk use of elemental mercury: a potential hazard for children *Journal of the National Medical Association*. 93: 320-322.
- [27]. BAUGHMAN, T. (2006). Elemental Mercury Spills. *Environmental Health Perspectives*. 114:147–152

- [28]. ZALUPS, R., y Ahmad, Z. (2005). Transport of *N*-Acetylcysteine *S*-Conjugates of Methylmercury in Madin-Darby Canine Kidney Cells Stably Transfected with Human Isoform of Organic Anion Transporter. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 314:1158–1168,
- [29]. DREIEM., *et al*( 2005). The Effects of Methylmercury on Mitochondrial Function and Reactive Oxygen Species Formation in Rat Striatal Synaptosomes Are Age-Dependent. *Toxicological sciences*. 87(1), 156–162
- [30]. SPURGEON, A. (2006). Prenatal Methylmercury Exposure and Developmental Outcomes: Review of the Evidence and Discussion of Future Directions. *Environmental Health Perspectives*. 114:307–312
- [31]. BOCAYUVA, L., *et al.* (2005). Performance on neurological development tests by riverine children with moderate mercury exposure in Amazonia, Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 21(4):1160-1167
- [32]. DEVLIN, Edward. (2006). Acute Toxicity, Uptake and Histopathology of Aqueous Methyl Mercury to Fathead Minnow Embryos. *Ecotoxicology*. 15: 97-110.
- [33]. STEINNES, E., (1997). Mercury In: Alloway, B.J. (ed.) *Heavy metals in soils* (second edition). Blackie Academic & Professional Press, London. 245–259.
- [34]. Alloway, B., y Ayres, D. (1994). *Chemical principles environmental pollution*,. Blackie academic y profesional. (5) : 155-278
- [35]. MILLER, J., *et al.* (1994). Dispersal of mercury-contaminated sediments by geomorphic processes, sixmile canyon, nevada, usa. implications to site characterization and remediation of fluvial environments. *Quaternary Sciences Center, Desert Research Institute, Reno, Nevada*: 4-5
- [36]. MILLHOLLEN, A., *et al.* ( 2006). Mercury accumulation in grass and forb species as a function of atmospheric carbon dioxide concentrations and mercury exposures in air and soil. *Chemosphere* 65 (2006) 889–897
- [37]. ALLARD, B., y Arsenie, I. (1991). Abiotic reduction of mercury by humic substances in aquatic system – an important process for the mercury cycle. *Water Air and Soil Pollution*. 56: 457–464.
- [38]. XIAO, Z.F., *et al.* (1995). Influence of humic substances on photolysis of divalent mercury in aqueous-solution. *Water Air and Soil Pollution*. 80 (4): 789–798.

- [39]. WAGNER–DOBLER, I., *et al.* (2000). Removal of mercury from chemical wastewater by microorganisms in technical scale. *Environmental Science and Technology*. 34: 4628–4634.
- [40]. BEGLEY, P., *et al.* (1986). Mechanistic studies of a protonolytic organomercurial cleaving enzyme – bacterial organomercurial lyase. *Biochemistry*. 25 (22): 7192–7200.
- [41]. López, E., *et al.* (2002). Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero*. 113: 3-21
- [42]. KABATA, P. (2004). Soil–plant transfer of trace elements—an environmental issue. *Geoderma*. 22: 143-149
- [43]. MILLÁN, R., *et al.* (2007). Rehabilitación de suelos contaminados con mercurio: estrategias aplicables en el área de Almadén. *Ecosistemas*. 16 (2): 56-66
- [44]. MALIKOVA, I., *et al.* (2008). Mercury in soils and plants in the area of Lake Bol'shoe Yarovoe. (49 ) 46–51
- [45]. JAGADEESAN, G., y Kavitha, A. (2006). Recovery of phosphatase and transaminase activity of mercury intoxicated *Mus musculus* (Linn.) liver tissue by *Tribulus terrestris* (Linn.) (Zygophyllaceae) extract. *Tropical Biomedicine* 23: 45–51
- [46]. Xia, H. (2004). Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere* 54 345–353
- [47]. MORENO, F., *et al.* (2008). Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environmental and experimental Botany*. 62 78–85
- [48]. MEAGHER, R., Heaton, A. (2005). Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic. *Environmental biotechnology*. 32: 502–513.
- [49]. EVANS, M., *et al.* (2005). Persistent organic pollutants and metals in the freshwater biota of the Canadian Subarctic and Arctic: An overview. *Science of The Total Environment*. 351: 94-147
- [50]. ZHANGWEI, W., *et al.* (2009). Mercury fluxes and pools in three subtropical forested catchments, southwest China. *Environmental Pollution*. 2009: 801-808
- [51]. PULFORD, I., y Watson C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environmental International*. 29: 529-540
- [52]. WATANABE, M., y Suzuki T. (2002). Involvement of reactive oxygen stress in cadmium-induced cellular damage in *Euglena gracilis*. *Toxicology & Pharmacology*. 131: 491-500

- [53]. THANGAVEL, P., y Subhram, C. (2004). Phytoextraction – Role of hyper accumulators in metal contaminated soils. Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B, 70(1): 109–130
- [54]. PRASAD, N., y Freitas, H. (2003). Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology. 6: 275–321.
- [55]. MARCHIOL, L., *et al.* (2004). Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*), Environmental Pollution. 132(1): 21-27.
- [56]. BIZILY, S., *et al.* (2003) Subcellular targeting of methylmercury lyase enhances its specific activity for organic mercury detoxification in plants. *Plant Physiol.* (131):463–47
- [57]. RUGH, L., *et al.* (1996). Mercury ion reduction and resistance in transgenic Arabidopsis thaliana plants expressing a modified bacterial merA gene. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). (93): 3182-3187.
- [58]. LI, S., *et al.* 2007). Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. Environmental Pollution. 147: 168-175
- [59]. SUSARLA, *et al.* (2002). Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering 18: 647–658.
- [60]. RASKIN, I., Smith, R., Salt, D. (1997): Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment. Curr. Opin. Biotechnol. 8(2): 221-226
- [61]. KAMNEV, A., y Van der Lelie, D. (2000). Chemical and Biological Parameters as Tools to Evaluate and Improve Heavy Metal Phytoremediation. Bioscience Reports. 20(4): 239-258.
- [62]. GHOSH, M., y Singh, S. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. Applied ecology and environmental research. 3(1): 1-18.
- [63]. NEDELKOSKA, T., y Doran, P. (2000). Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. Biotechnol. Bioeng. 67: 607–615.
- [64]. PATRA, J., *et al.* (2000). Aluminium triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate, but not to maleic hydrazide in plant cells in vivo. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.465: 1-9
- [65]. PATRA, M., *et al.* (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany. 52: 199-223.

- [66]. BONTIDEAN, I., *et al.* (2004). Biosensors for detection of mercury in contaminated soils. *Environmental Pollution*. 131: 255-262.
- [67]. CAVALLINI, A., *et al.* (2008) Mercury uptake, distribution and DNA affinity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) plants. *Science of The Total Environment*. 243: 119-127
- [68]. HIRSCH, R., *et al.* (1998). A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. *Science*. (280): 918-921
- [69]. RASKIN, I., y Smith, D. (1997): Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion journals*. 8: 221-226
- [70]. JING , Y., y Yang, X. (2007). Effects of pH, organic acids, and competitive cations on mercury desorption in soils. *Chemosphere* 69 (2007) 1662–1669
- [71]. HIGASHI, R., Fan, T., y Lane, A . (1998) Association of desferrioxamine with humic substances and their interaction cadmium(II) as studied by pyrolysis-gas chromatographymass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy *Analyst*. 123:911–918
- [72]. FAN T, Lane AN, Pedler J, Crowley D, y Higashi RM (1997) Comprehensive analysis of organic ligands in whole root exudates using nuclear magnetic resonance and gas chromatography- mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*. 251:57–68
- [73]. FAN, T., *et al.* (2001) Comprehensive chemical profiling of gramineous plant root exudates using high-resolution NMR and MS. *Phytochemistry* 57:209–221
- [74]. RICHARD, B., *et al.*. (2005). Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 32: 502–513
- [75]. COBBETT, CHRISTOPHER. (2000). Phytochelatins and Their Roles in Heavy Metal Detoxification. *Plant Physiology*. (123): 825–832.
- [76]. THUMANN, J., *et al.* (1991). Reactivation of metal-requiring apoenzymes by phytochelatinmetal complexes. *Fomerly european journal of biochemistry*. 284: 66–69.
- [77]. WANG, Y., Greger, M. (2006). Use of iodide to enhance the phytoextraction of mercury-contaminated soil. *Science of the Total Environment*. 368: 30– 39.
- [78]. BIZILY, S. (1998). Genetic engineering of plants with the bacterial genes merA and merB for the phytoremediation of methylmercury contaminated sediments. PhD Thesis, Genetics Department, University of Georgia

- [79]. BUCHELI-WITSCHEL, M., y Egli, T. (2001) Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. Formerly european journal of biochemistry. 25 :69–106.
- [80]. LESAGE, E., *et al.* (2005). Enhanced Phytoextraction: II. Effect of EDTA and Citric Acid on Heavy Metal Uptake by *Helianthus annuus* from a Calcareous Soil. International Journal of Phytoremediation. 7: 143 – 152.
- [81]. WANG, Y. (2004). Phytoremediation of mercury by terrestrial plants. Department of Botany Stockholm University, Sweden : 7-14.
- [82]. SMOLINSKA, B., y Cedzynska, K. (2007). EDTA and urease effects on Hg accumulation by *Lepidium sativum*. Chemosphere. 69: 1388-1395
- [83]. DUARTE, B., Delgado, M., y Caçador, I. (2007). The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation, in *Halimione portulacoides*. Chemosphere.
- [84]. Standar methods 20<sup>th</sup> edition
- [85]. MILLAN, R., *et al.* (2002). Rehabilitación de suelos contaminados con mercurio: estrategias aplicables en el área de almaden. Ecosistemas. 16: 56-65
- (86), CAFER, T., Pepe, K., y Cutright, T. (2004). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. Environmental Pollution. 131: 147-154

# Anexos

## ANEXO 1. IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA POR EL HERBARIO NACIONAL DE COLOMBIA



Bogotá D.C., 11 de Mayo de 2009  
COL-066

Señor  
Hiver Perez  
Jhon Anaya  
Bogotá

Asunto: Identificación Taxonómica.

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

Nombre: *Cecropia peltata* L.  
Familia: CECROPIACEAE  
No. COL: 530664  
No. Colección: Perez Hiver, Anaya Jhon No.1  
Determinó: O. Rivera-Díaz

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Cordialmente,

  
Prof. Luis Carlos Jimenez  
Administrador General  
Herbario Nacional Colombiano - COL  
E-mail: herbacol\_fcbog@unal.edu.co

Copia: Archivo COL  
Página 4/4

## **ANEXO 2. ZONA DE EXPLOTACIÓN**



## **ANEXO 3. ZONA URBANA**



#### **ANEXO 4. ZONA DE ESCORRENTIAS (Aledaña a la cienaga La Redonda)**



#### **ANEXO 5. CORRIENTES MIXTAS**



## ANEXO 6. CORRIENTES DE AMALGAMACIÓN

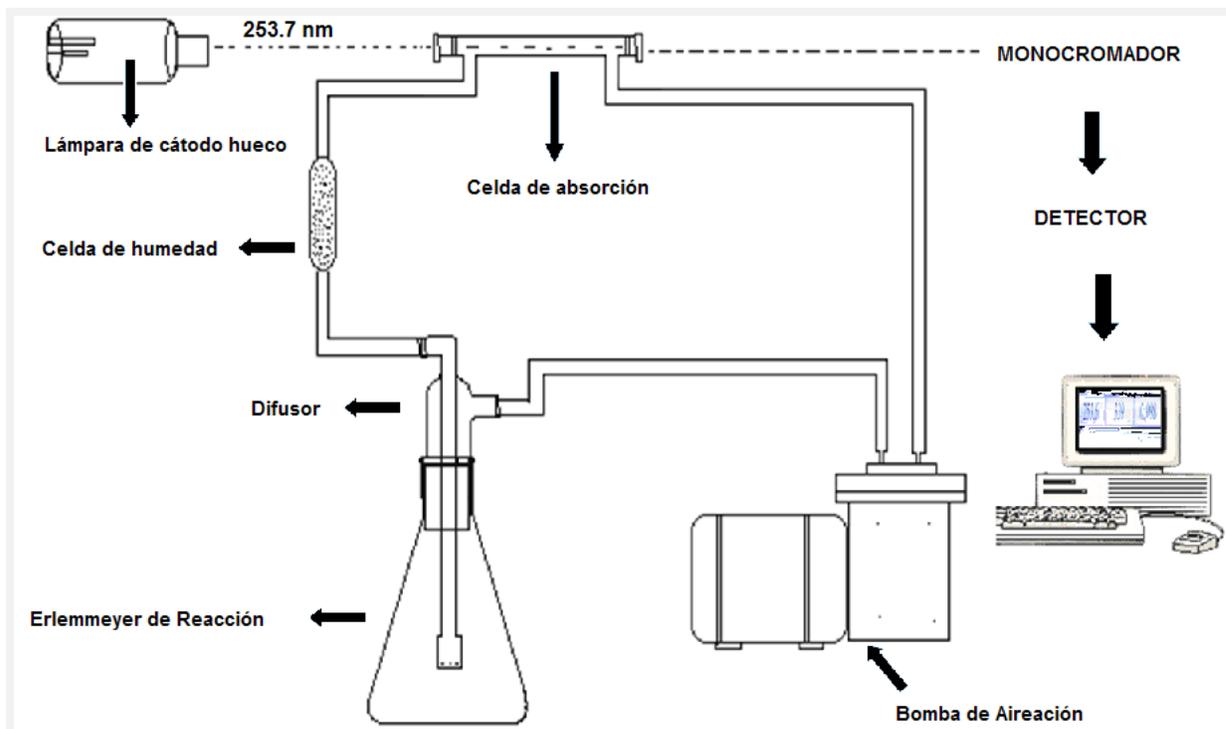


## ANEXO 7. DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE HgT

El Hg en suelos se determina por el método de absorción atómica con vapor frío adaptado de Sadiq, *et al.*, (1991) y USEPA, (1998); y en el caso de las muestras vegetales, por la misma técnica, con el procedimiento de digestión y análisis de Sadiq, *et al.*, (1991) y USEPA, (1994), previamente validados en el Laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba. El método se basa en la conversión rápida de los compuestos oxidados de  $\text{Hg}^{+2}$  a su forma volátil ( $\text{Hg}^0$ ) a través de la reducción con  $\text{SnCl}_2$ . El mercurio elemental formado en la mezcla es desplazado por burbujeo con aire y es transportado en forma de vapor hasta la celda de absorción del equipo. La concentración del metal en la muestra es determinada

empleando una curva de calibración creada mediante soluciones patrón de mercurio en un rango establecido.

Los análisis se realizan por duplicado y los resultados se reportaran en ng Hg/g peso seco. Las determinaciones de mercurio se realizaran en un espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Electron S-series (provisto de una celda con ventanas de cuarzo) el cual se muestra en a continuación:



**ANEXO 8. FOTOGRAFIAS DE *Cecropia peltata***



