



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Bioacumulación de Mercurio en Plantas Silvestres
de Zonas Mineras de México".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

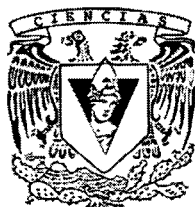
P R E S E N T A :

RAMCES DE JESÚS GARCÍA

TUTOR

Dr. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

2007



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice de Contenido

| | |
|--|----|
| Resumen | 4 |
| Introducción | 5 |
| Marco Teórico | 9 |
| • El mercurio como un contaminante global..... | 9 |
| ○ Fuentes de emisión..... | 9 |
| ○ Movilidad del mercurio en la atmósfera, el agua, el suelo y sus interfases..... | 10 |
| ○ Toxicidad, bioacumulación y biomagnificación del mercurio..... | 13 |
| ○ El mercurio en México..... | 15 |
| • Fitorremediación..... | 16 |
| ○ Procesos básicos en la fitorremediación de metales tóxicos..... | 18 |
| ○ Ventajas y desventajas de la fitorremediación..... | 20 |
| • Toxicidad e interacción del Hg con las plantas..... | 22 |
| Justificación | 25 |
| Objetivos | 27 |
| Método | 28 |
| • Elección y caracterización de los sitios de muestreo..... | 28 |
| • Selección y muestreo de plantas..... | 34 |
| • Identificación del material vegetal recolectado..... | 34 |
| • Preparación del material vegetal..... | 34 |
| • Digestión del material vegetal..... | 35 |

| | |
|--|-----------|
| • Análisis de Hg total..... | 36 |
| • Establecimiento de condiciones óptimas de germinación..... | 37 |
| • Pruebas de resistencia a Hg..... | 37 |
| Resultados..... | 39 |
| • Bioacumulación de Hg en las especies analizadas..... | 40 |
| • Condiciones óptimas de germinación..... | 41 |
| • Sensibilidad al mercurio..... | 44 |
| Discusión..... | 49 |
| Conclusiones..... | 56 |
| Recomendaciones..... | 59 |
| Referencias..... | 60 |

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Fig. 1 Ciclo biogeoquímico del Hg..... | 12 |
| Fig. 2 Mecanismo general de acción para la detoxificación bacteriana del Hg..... | 13 |
| Fig. 3 Metilación del Hg en el ambiente..... | 14 |
| Fig. 4 El Hg en México..... | 16 |
| Fig. 5 Procesos básicos en la fitorremediación de suelos..... | 19 |
| Fig. 6 Estructura general de las fitoquelatinas..... | 23 |
| Fig. 7 Localización de los puntos de muestreo en “La Zacatecana” | 29 |
| Fig. 8 Localización de los puntos de muestreo en “El Lampotal”..... | 31 |

| | |
|--|----|
| Fig. 9 Localización de los puntos de muestreo en “Huahuaxtla”..... | 33 |
|--|----|

Lista de Tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Programa de digestión del horno de microondas..... | 35 |
| Tabla 2. Composición de la solución nutritiva..... | 38 |
| Tabla 3. Lista de especies vegetales registradas en los sitios de estudio..... | 39 |
| Tabla 4. Concentración de Hg en las plantas recolectadas..... | 40 |

Lista de Gráficas

| | |
|---|----|
| Gráfica 1. Germinación de las semillas de <i>B. odorata</i> | 41 |
| Gráfica 2. Porcentajes de germinación para las semillas de <i>C. pumila</i> | 42 |
| Gráfica 3. Porcentajes de germinación para <i>S. rhyacophila</i> | 43 |
| Gráfica 4. Influencia de la temperatura en la germinación final para las semillas de <i>S. rhyacophila</i> | 44 |
| Gráfica 5. Efecto del Hg en las hojas de plántulas de <i>S. rhyacophila</i> | 45 |
| Gráfica 6. Efecto del Hg en los tallos de plántulas de <i>S. rhyacophila</i> | 46 |
| Gráfica 7. Efecto del Hg en las raíces de plántulas de <i>S. rhyacophila</i> | 47 |
| Gráfica 8. Efecto de la exposición a HgCl ₂ en la longitud del tallo de las plántulas de <i>S. rhyacophila</i> | 48 |
| Gráfica 9. Efecto de la exposición a HgCl ₂ en la longitud de las raíces de plántulas de <i>S. rhyacophila</i> | 48 |

Anexos

| | |
|---|----|
| 1 Descripción taxonómica de las especies usadas en pruebas de resistencia a Hg..... | 71 |
|---|----|

Resumen

El mercurio (Hg) es un contaminante con gran impacto en la calidad ambiental global. El impacto deriva de la gran variedad de fuentes (antropogénicas y naturales), toxicidad, movilidad en el ambiente y la tendencia de este metal a biomagnificar en ecosistemas acuáticos y terrestres. A lo largo del mundo, incluyendo México, se localizan diferentes sitios contaminados con Hg en espera de ser rehabilitados. Existen diferentes tecnologías de remediación para rehabilitar suelos y disminuir la biodisponibilidad de este contaminante, una de las más prometedoras es la fitorremediación. La fitorremediación, el uso de las plantas para remover contaminantes del ambiente o transformarlos a una forma menos tóxica, se considera como una técnica apropiada para remediar suelos *in situ* y ya ha sido aplicada para otros metales tóxicos. La pregunta de qué tan factible es dicha técnica para el Hg, permanece aún abierta.

Un requisito para rehabilitar suelos mediante dicha técnica, es la selección de especies que puedan tolerar y además acumular el Hg. Los depósitos de residuos mineros son uno de los principales problemas ambientales en nuestro país, y su remoción es a menudo complicada debido a su alto contenido en metales tóxicos y a las dimensiones de dichos depósitos. Algo que caracteriza a estos sitios, es que muchos han sido colonizados por especies vegetales silvestres, estas plantas están adaptadas a estas condiciones de contaminación.

El objetivo de este trabajo fue identificar especies vegetales silvestres con potencial de acumulación de mercurio, en tres zonas mineras de México: "La Zacatecana", "El Lampotal" ambas en el estado de Zacatecas y por último, la localidad de "Huahuaxtla" en el municipio de Taxco, Guerrero.

Se registraron un total de 13 especies de plantas silvestres. La cuantificación de Hg total en éstas se realizó por espectroscopia de absorción atómica por el método de vapor frío (CV-AAS). El análisis mostró tres especies con altos niveles del metal: *Bidens odorata* Cav. (> 100 mg/kg), *Salvia rhyacophila* Epling (> 80 mg/kg) y *Crotalaria pumila* Ortega (> 200 mg/kg).

Con la finalidad de determinar el posible uso de estas especies en tecnologías de fitorremediación, se realizaron pruebas de tolerancia y fitotoxicidad mediante su cultivo en presencia de HgCl₂. Sólo *S. rhyacophila*, pudo mantener un crecimiento ante la exposición a Hg. La utilidad de esta especie en la fitoestabilización de un suelo contaminado con Hg es discutida.

Introducción

En las últimas décadas se ha incrementado la contaminación por metales tóxicos debido a causas naturales y antropogénicas; como resultado, diferentes ecosistemas en nuestro planeta han sido afectados. El transporte de contaminantes hacia sitios no contaminados a través del polvo, productos lixiviados en el suelo, descargas de aguas y lodos residuales son ejemplos de eventos que contribuyen en la contaminación de nuestros ecosistemas.

Una fuente importante de contaminación por metales pesados en México la constituyen las actividades mineras. Estas actividades generan contaminación por descargas y liberación de subproductos en la extracción de metales. Desde épocas coloniales diferentes residuos mineros de metales tóxicos quedaron incorporados en fracciones de suelos (jales) a lo largo del país. Uno de los metales tóxicos presentes de manera común en los jales de las minas mexicanas es el mercurio (Hg), elemento que se caracteriza por su alta toxicidad.

El mercurio es un elemento natural que puede existir en diversas formas, ya sea como elemento o en un compuesto químico; tiene una gran variedad de propiedades físico-químicas únicas. Es el único metal que, en forma pura, es líquido a temperatura ambiente y se caracteriza por ser volátil. Su símbolo químico (Hg) deriva de su nombre en latín *hydrargyrum*, “plata líquida”. El Hg conduce electricidad y se expande a una tasa constante en respuesta a cambios de presión o temperatura. Cuando se combina con otros gases puede formar moléculas más complejas que pueden emitir luz al paso de corriente. También se caracteriza por formar mezclas maleables con otros metales generando “amalgamas”. Estas características han permitido una gran cantidad de aplicaciones del Hg en ámbitos comerciales e industriales.

Este metal tóxico, puede estar presente en el aire, el suelo y el agua; en el ambiente el Hg puede ser transformado en un complejo orgánico: el metilmercurio (CH_3Hg^+), la forma más tóxica de este elemento. Los daños al ambiente y a la salud, resultado de la exposición al Hg, han captado la atención durante los últimos años. Diferentes eventos de contaminación entre los años 1950 y 1970 alrededor del mundo han mostrado su peligrosidad para el ser humano, así como el grave daño causado al ambiente como resultado de un mal manejo del Hg en actividades industriales y comerciales (Horvat, 2002). Hoy en día, sabemos que aún bajas cantidades de Hg liberadas al ambiente pueden llevar a cantidades elevadas de metilmercurio en tejidos de diferentes organismos, a través de procesos tales como la bioacumulación y la biomagnificación (Boening, 2000).

Los metales tóxicos son difíciles de remover del ambiente y, a diferencia de muchos otros contaminantes, no pueden ser química o biológicamente degradados, lo que en última instancia los hace “indestructibles”. Las plantas tienen diferentes propiedades naturales que las convierten en prospectos ideales para ser usados en la limpieza de aire, suelos y cuerpos de agua contaminados; a través de un proceso denominado fitorremediación. La fitorremediación es una tecnología emergente, que utiliza a las plantas y microorganismos asociados a la rizósfera para extraer metales tóxicos del suelo o bien inmovilizarlos. Algunos de los mecanismos usados por las plantas para hacer frente a contaminantes incluyen: la fitoextracción, la fitoacumulación, la fitoestabilización y la fitovolatilización. Con respecto a la contaminación de suelos por mercurio, en años recientes, varios estudios han demostrado la potencialidad de las plantas para remediarlos (Bizily et al., 2000; He et al., 2001; Rugh et al., 1996). Bizily y sus colaboradores (2000) describen cómo plantas de *Arabidopsis thaliana* al expresar dos transgenes (*MerA* para la mercurio reductasa y *MerB* para la enzima liasa organomercurial) pueden realizar la conversión de mercurio orgánico a una forma volátil y realizar así la remoción del contaminante.

Existe un problema para aceptar el proceso de volatilización del mercurio como una medida segura de remediación. Este gas tiene una residencia atmosférica de uno a dos años aproximadamente, ya en ella puede ocurrir la transformación de la forma insoluble Hg (0) a la forma Hg(II), altamente reactiva y soluble en agua. La oxidación del Hg(0) puede ser afectada por otros contaminantes atmosféricos tales como el ozono (O₃) y el dióxido de azufre (SO₂), entre otros, los cuales aceleran el proceso. Al redepositarse en suelos, sedimentos y cuerpos de agua puede ocurrir la transformación a metilmercurio, compuesto altamente tóxico. En el ambiente, la principal ruta de transporte que sigue el Hg se da a través del intercambio entre el suelo, el aire, océanos y cuerpos de agua dulce. Otro tipo de transporte involucra el intercambio de Hg que existe entre el suelo, el agua y la vegetación que habita en los mismos. Éste último ofrece una enorme posibilidad para remover el Hg a partir de suelos y cuerpos de agua contaminados, mediante la toma y el secuestro del metal por parte de las plantas (Bennicelli et al., 2004; Lodenius et al., 2003; Schwesig y Krebs, 2003; Wang y Wai, 1996).

Los sitios contaminados a menudo albergan especies de plantas particulares. Estas especies han podido adaptarse con éxito a las condiciones generadas en un suelo contaminado; algunas pueden acumular altas concentraciones de metales pesados en sus tejidos. La mayoría de las plantas que sobreviven en suelos contaminados, lo hacen ya sea al evitar la incorporación de los metales pesados o hiper-acumulándolos en sus tejidos. Hasta la fecha se han identificado más de 400 especies hiperacumuladoras, la mayoría de las cuales han sido encontradas en sitios contaminados (Kramer et al., 1997) de Europa, Estados Unidos de América, Nueva Zelanda y Australia. En suelos tan adversos para el desarrollo de especies vegetales es importante conocer cuáles y cuántas son las especies que logran penetrar, sobrevivir y colonizar ambientes tan inhóspitos. En el caso particular del Hg, se ha visto que suelos mineros contaminados con este metal, albergan especies que incorporan al elemento en sus tejidos sin afectar de manera drástica su crecimiento (Higuera et al., 2003).

México se caracteriza por ser un país megadiverso, con una gran riqueza en especies de plantas estimada en más de 15 000 especies (5º lugar a nivel mundial); por otro lado, existen en el país más de veinte sitios identificados por tener concentraciones elevadas de Hg (Acosta y Asociados, 2002). Es necesario conocer las plantas que habitan en estos sitios contaminados, con la finalidad de poder determinar si éstas podrían ser usadas como bioacumuladores de Hg en tecnologías de biorremediación.

Marco Teórico

El mercurio (Hg) como un contaminante global.

El Hg, al igual que cualquier otro elemento químico, no puede ser degradado y no puede ser destruido por combustión para ser eliminado del ambiente. Este metal entra al ambiente por fuentes naturales y antropogénicas (Sánchez y Sanz-Medel, 1998) y resulta ser un contaminante con gran impacto, debido a la alta movilidad que presenta entre el aire, el agua, el suelo y sus interfases (Boening, 2000).

El Hg es considerado como un contaminante global, debido a la capacidad de transporte a grandes distancias en la atmósfera (Nriagu, 1993). Esta capacidad está dada por la volatilidad característica del Hg elemental (Hg^0), la cual permite al elemento circular en el ambiente a través de diferentes pasos: emisión a la atmósfera, transporte, deposición y re-emisión. Posterior a su liberación a la atmósfera y dependiendo de la forma química o física en que sea liberado, el Hg puede depositarse en sitios aledaños a la zona de emisión, o bien estar sujeto a un transporte atmosférico a grandes distancias por medio de masas de aire continentales (Wang et al., 2003).

Fuentes de emisión de Hg.

Existen dos formas generales de liberación de Hg al ambiente: fuentes naturales y fuentes antropogénicas.

- a) Fuentes naturales : intemperismo y erosión de compuestos minerales de Hg en rocas y suelo, erupciones volcánicas y otras actividades de tipo geotérmico, incendios forestales, volatilización a partir del suelo y fotoreducción del Hg divalente en el agua (Pyle y Mather, 2003).

- b) Fuentes antropogénicas: combustión de combustibles fósiles, madera, incineración de residuos municipales; procesos industriales a altas temperaturas (procesos de fundición y producción de cemento), la minería (extracción de oro y plata), producción de carboelectricidad, descargas de aguas y lodos residuales, entre otros (Mason et al., 1994; Pacyna et al., 2006)

Durante mucho tiempo las industrias químicas, mineras y de papel han usado el Hg dentro de sus procesos de producción. Un mal manejo de los compuestos residuales en la industria, aunado a eventos tales como la ruptura de aparatos con Hg, así como la falta de conocimiento sobre la toxicidad del elemento, han provocado un aumento en la contaminación del ambiente por Hg (Connell et al., 1997).

En algunos sitios las emisiones antropogénicas rebasan aquéllas de origen natural; así mismo, algunos análisis muestran que la contribución antropogénica de Hg a la atmósfera es el doble que aquélla provocada por emisiones naturales (Boening, 2000; Hylander y Meili, 2005).

Movilidad del Hg en la atmósfera, el agua, el suelo y sus interfases.

Las emisiones de Hg al ambiente, antropogénicas y naturales, pueden permanecer localizadas temporalmente en el sitio de emisión, o bien, pueden ser transportadas regional y globalmente. Ya en la atmósfera, el Hg puede tener una redepositación hacia la litósfera e hidrósfera (Bargagli, 1998). En la atmósfera, el Hg está presente en su forma elemental Hg (0), en forma orgánica como dimetilmercurio (CH_3HgCH_3), como especies gaseosas divalentes Hg (II) y en formas adheridas a partículas Hg (p). La forma Hg (0) domina en la atmósfera (> 95%) y tiene una vida media de alrededor de 1 año. El Hg (0) tiene una baja

solubilidad en el agua, pero se caracteriza, al igual que el dimetilmercurio, por su fácil transporte en la atmósfera. La forma Hg (II) tiene una vida más corta (de horas a días) debido a su alta solubilidad, mientras que la forma Hg (p) es removida rápidamente por medio de la precipitación, aunque puede permanecer días o semanas en ausencia de la misma (Keeler et al., 1995; Wang et al., 2003; Wiener et al., 2003). La deposición atmosférica del Hg contribuye en gran parte a la contaminación de suelos y cuerpos de agua.

La movilidad del Hg en la Tierra es compleja, ocurre como resultado de la transferencia de compuestos de Hg entre los tres sistemas ambientales: la atmósfera, el agua y el suelo (Forlano et al., 2000; Lin y Pehkonen, 1999). El ciclo biogeoquímico del Hg, implica a su vez, una serie de transformaciones físico-químicas que ocurren al metal, como resultado de interacciones en los tres sistemas antes mencionados (Meili et al., 2003; Seigneur et al., 2003; Fig. 1).

El Hg también puede ser transportado por ríos, a través del arrastre de sedimentos o en la solución acuosa, pudiendo así llegar a lagos, lagunas y océanos. El agua contiene Hg principalmente en la forma iónica Hg(II), también pueden encontrarse formas volátiles tales como el Hg (0) y el CH₃HgCH₃ (Leermakers et al., 2005). En la columna de agua el Hg se encuentra principalmente ligado a materia orgánica, comúnmente a ácidos húmicos y fúlvicos, o a partículas en suspensión (Rémy et al., 2003). En los sedimentos, el Hg se encuentra formando compuestos con azufre, materia orgánica y partículas minerales (Ullrich et al., 2001). La concentración de compuestos de Hg en diferentes cuerpos de agua varía ampliamente, dependiendo de las condiciones locales humanas y ambientales (Horvat et al., 2003; Rémy et al., 2003).

En el suelo, el Hg está fuertemente unido a partículas minerales y constituyentes del perfil edáfico, aunque la gran cantidad de interacciones que ocurren en zonas como la rizósfera, permiten una liberación del metal a la solución del suelo (Brown et al., 1999; Renneberg y Dudas, 2001).

Parte del Hg disuelto en la solución del suelo consiste en iones libres de Hg y complejos solubles. Éstos se encuentran a disposición de microorganismos y plantas (Ericksen y Gustin, 2004; Petänen y Romantschuk, 2003). Las especies de Hg que se encuentran débilmente adsorbidas a minerales y materia orgánica, tales como el Hg (0), mantienen una vaporización del Hg en suelos contaminados (Böhme et al., 2005; Moreno et al., 2005).

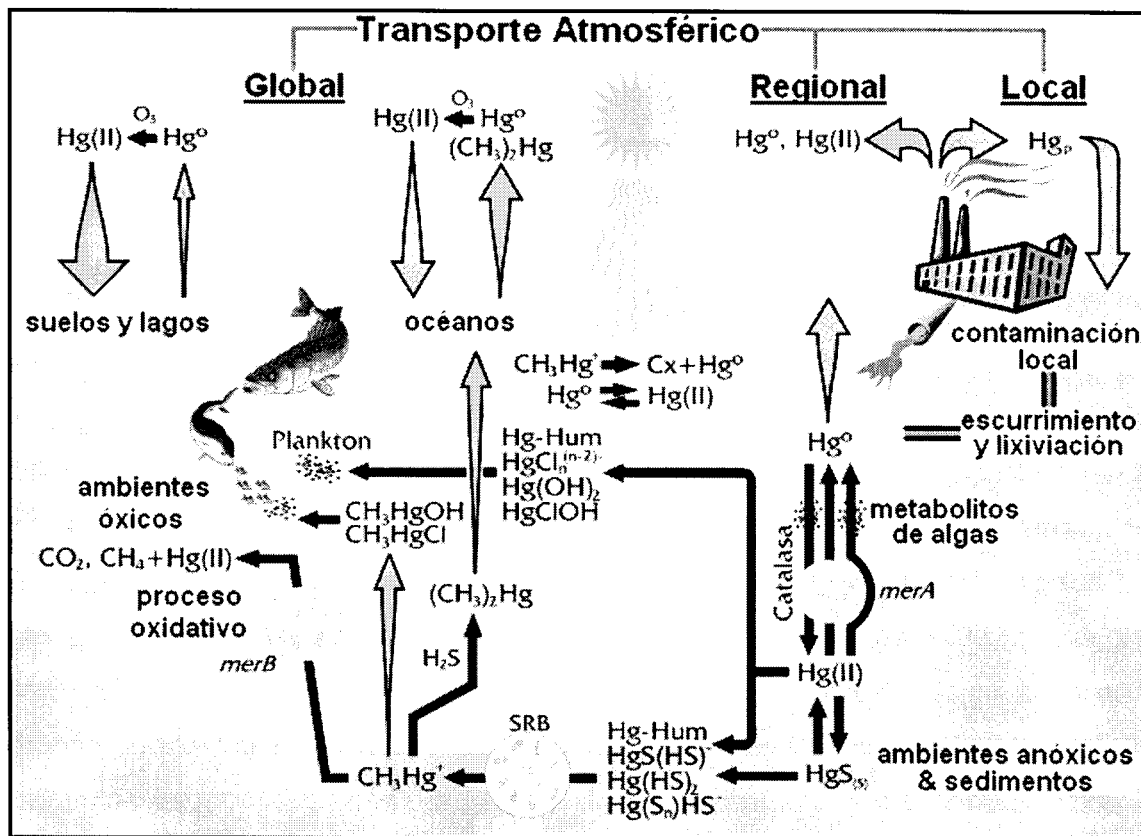


Fig. 1 Ciclo biogeoquímico del Hg (adaptado de Barkay et al., 2003).

En el suelo, el Hg (II) puede transformarse a Hg (0) mediante reducción abiótica o mediada por bacterias. Por un lado, los ácidos húmicos y fúlvicos en la solución del suelo pueden reducir el Hg (II) a su forma elemental Hg (0) (Matthiessen, 1998; Schlüter, 2000; Xiao et al., 1995). Algunas bacterias poseen una enzima, la liasa organomercurial (*MerB*), la cual permite el rompimiento del enlace C-Hg en diferentes compuestos orgánicos, liberando al elemento en forma

iónica Hg(II) (Begley et al., 1986; Bizily et al., 1999; Fig.2 -2). Otra enzima, la mercurio reductasa (*MerA*), es responsable de la reducción electroquímica del Hg(II) a la forma elemental Hg (0) permitiendo así su incorporación a la atmósfera (Barkay et al., 2003; Che et al., 2003; Yang et al., 2003; Fig. 2 - 1).

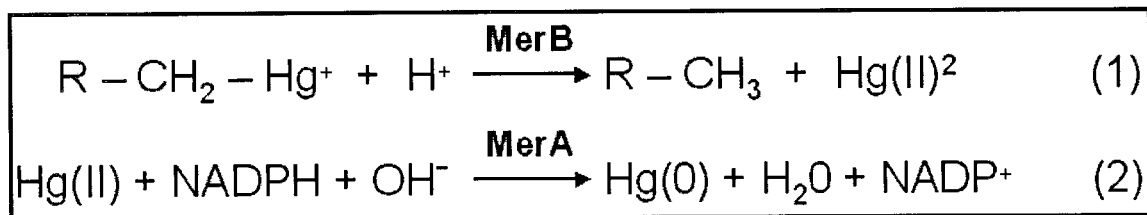


Fig. 2 Mecanismo general de acción para la detoxificación bacteriana del Hg.

Toxicidad, bioacumulación y biomagnificación del Hg.

Todas las formas conocidas del Hg han sido establecidas como tóxicas. La exposición a concentraciones elevadas de Hg puede causar daños neurológicos irreversibles, daños en riñones e 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. La exposición a Hg en el hombre puede ocurrir a través del consumo de alimentos contaminados con Hg (productos vegetales, peces), la ingesta de agua contaminada y la respiración de aire contaminado. La contaminación del suelo y de los cultivos agrícolas ocurre a partir del depósito de Hg (0) atmosférico, o como resultado de la irrigación con aguas residuales de origen municipal o industrial (Jedrzejczak, 2002; Kim, 2004; Zhou et al., 2000).

El Hg que entra en sistemas edáficos y sistemas acuáticos puede ser transformado en dos formas orgánicas: metilmercurio (CH_3Hg^+) y dimetilmercurio (CH_3HgCH_3). Cuando el Hg entra en el cuerpo, usualmente como metilmercurio (CH_3Hg^+), éste se mueve a través del torrente sanguíneo y es acarreado al

hígado, los riñones y el cerebro, causando así una gran variedad de desordenes sistémicos y neurológicos. El metilmercurio es una potente neurotoxina, capaz de pasar la barrera hemato-encefálica y se caracteriza, además, por ser capaz de atravesar la placenta (EPA, 1994; US-HHS, 1992). El metilmercurio tiene un gran impacto en el ser humano y los ecosistemas, ya que además de ser un teratógeno¹, es soluble en tejidos grasos de animales y, por consiguiente, puede bioacumularse y biomagnificarse. El metilmercurio, puede ser generado a partir de mercurio iónico Hg(II) como resultado de metabolismo en bacterias, ya sea en suelos o sedimentos acuáticos (Bizily et al., 2000; Fig. 3).

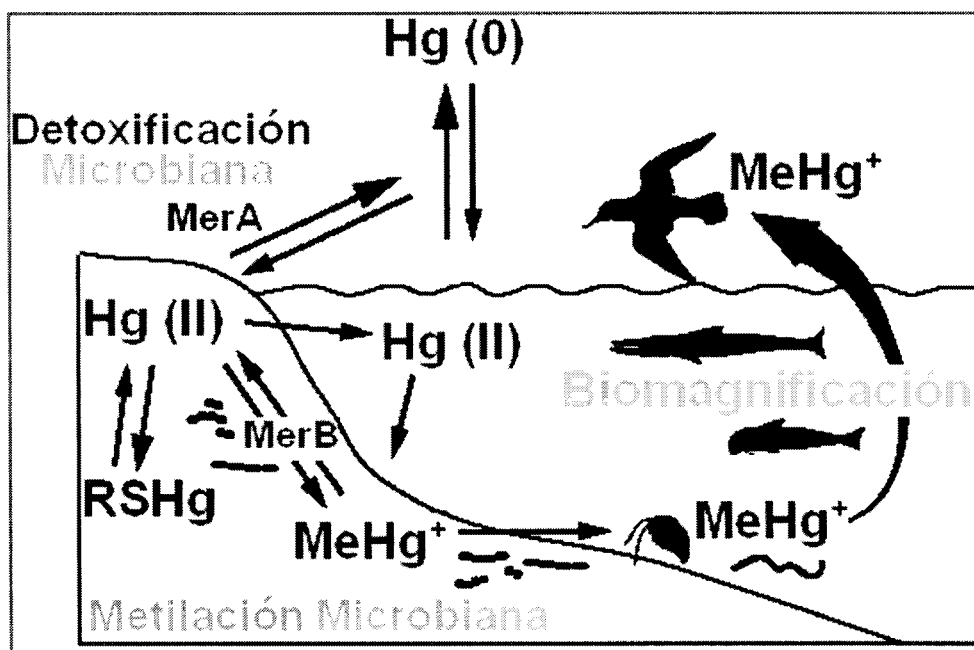


Fig. 3 Metilación del Hg en el ambiente. El metilmercurio tiene un gran impacto en el ambiente ya que tiende a entrar en las redes tróficas y biomagnificarse. Se estima que el metilmercurio se concentra en los peces en un orden de magnitud de seis a siete veces más que las concentraciones encontradas en aguas contaminadas y constituye el 90-100% del contenido total de Hg. (Adaptado de Bizily et al., 2000)

¹ En un contexto amplio, un teratógeno es una sustancia capaz de provocar alteraciones en las células, tejidos u órganos durante la etapa de desarrollo embrionario.

El proceso de bioacumulación ocurre cuando los organismos (incluyendo el ser humano), 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 aquéllas con un alto contenido en residuos de cisteína (Ullrich et al., 2001). Los organismos acuáticos pueden obtener el metilmercurio a partir del alimento, el agua y los sedimentos. La bioacumulación de metilmercurio en estos organismos se da como consecuencia de una exposición continua, aunado a que la tasa de eliminación es muy lenta en comparación con la de absorción (Morel et al., 1998). La biomagnificación está definida como el incremento en la concentración de un contaminante conforme se avanza en los niveles tróficos de una cadena alimenticia (Cox et al., 2003).

El Hg en México

México es un gran productor de cobre (Cu), plata (Ag), plomo (Pb), zinc (Zn) y oro (Au), y cuenta con importantes yacimientos de mercurio (Hg) (Galeotti, 2006). En la naturaleza estos metales se encuentran en gran parte como compuestos de azufre (S), tales como CuS, PbS, ZnS y HgS (cinabrio). El mercurio tiene un punto de ebullición más bajo (356.9 °C) que metales como el oro y la plata. Esta propiedad fue usada en la minería de nuestro país desde épocas coloniales en procesos de refinación del oro y otros metales. Se estima que entre 1540 y 1850, España envió a México más de 40 mil toneladas de mercurio para la extracción de oro y plata (Camargo, 2002; Hylander y Meili, 2003). Dichas actividades de extracción generan una gran cantidad de residuos de Hg, los cuales en gran parte son liberados al ambiente (Hylander y Meili, 2005; Nriagu, 1994).

En nuestro país, las actividades mineras en particular han generado un gran impacto en el ambiente ya que diferentes compuestos de Hg han quedado

depositados en sistemas edáficos, sedimentos y cuerpos de agua de zonas mineras. En la actualidad tenemos más de 20 sitios a lo largo del país con más de 10 ppb de Hg en los primeros 2 metros de profundidad (Fig. 4).

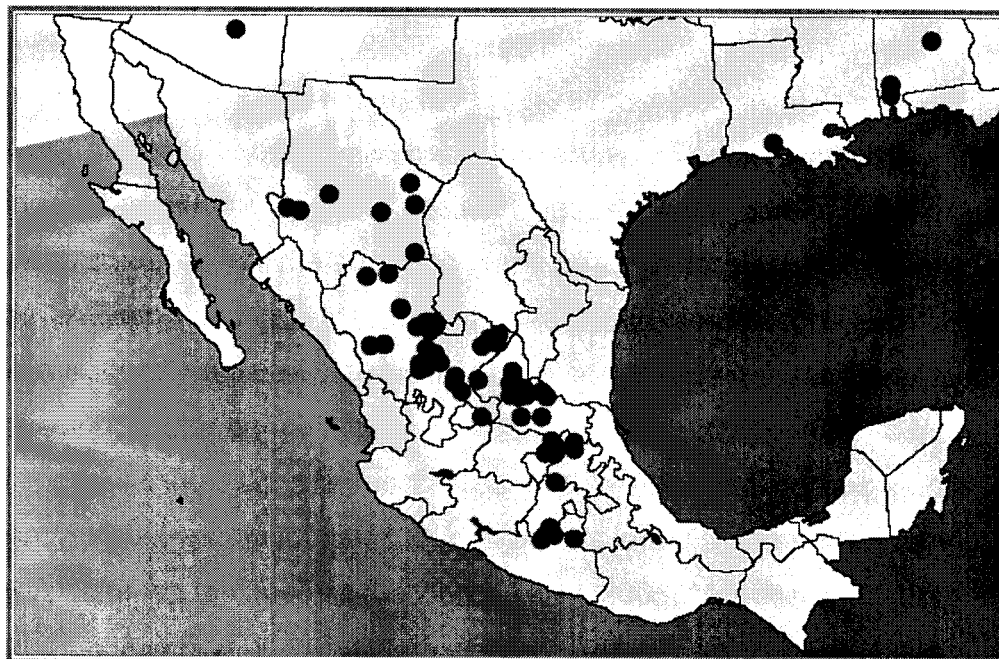


Fig. 4 El Hg en México. Los puntos denotan sitios donde la concentración de Hg es >10 ppb. (CEC., 2003).

Las plantas que producen gas, cloro y sosa cáustica, la industria de la refinera del petrleo, las plantas productoras de cemento, las plantas generadoras de electricidad, entre otras, aumentan los problemas de contaminaci3n por Hg en nuestro pa3s (Acosta y Asociados, 2001).

Fitorremediaci3n

Un suelo contaminado puede ser recuperado mediante t3cnicas f3sicas, qu3micas o biol3gicas. Por un lado, se tienen aquellas t3cnicas que requieren de la remoci3n del suelo contaminado para su tratamiento, t3cnicas *ex situ*. Por otra parte, se tienen aquellas t3cnicas cuyo fin es realizar la remediaci3n en el mismo sitio, es

decir, sin realizar excavación y remoción del suelo contaminado, técnicas *in situ* (Colleran, 1997; Khan et al., 2000). En general, las técnicas *ex situ* involucran altos costos de operación así como dificultades en el manejo del material contaminado. El acceso al material contaminante dentro de un cuerpo de suelo es una restricción importante.

Las plantas tienen una habilidad notable para extraer y concentrar elementos y compuestos a partir del aire, del agua y el suelo. También cuentan con mecanismos en su metabolismo para poder realizar transporte de metales pesados (Williams et al., 2000). Se caracterizan, además, por tener respuestas enzimáticas para frenar el estrés oxidativo provocado por el incremento en la concentración celular de metales tóxicos (Cho y Park, 2000). 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 (Le Duc y Terry, 2005; Meagher y Heaton, 2005).

Además de estas adaptaciones fisiológicas, el sistema de raíces de las plantas puede hacer infiltraciones en grandes volúmenes de suelo. Como resultado de estas ventajas surge el interés de usar a las plantas como medio para enfrentar la contaminación ambiental y recuperar sitios contaminados.

La remediación ambiental basada en plantas o fitorremediación, es un área de investigación científica intensiva. Ésta es una tecnología emergente que utiliza a las plantas y a los microorganismos asociados a la rizósfera para remover, transformar o contener sustancias contaminantes localizadas en cuerpos de suelo, agua y sedimentos (Khan et al., 2000; Krämer, 2005; Rugh, 2004).

La fitorremediación se considera ahora una tecnología prometedora, de bajo costo y amigable con el ambiente, con la cual y de manera integral, se podrán recuperar distintos sitios contaminados (Arthur et al., 2005; Garbisu y Alkorta, 2001; Suresh y Ravishankar, 2004).

Procesos básicos en la fitorremediación de metales tóxicos

Existen diferentes procesos en la fitorremediación que pueden ser aplicados a contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes en el aire, el suelo y el agua (Lombi et al., 2001; González et al., 2006; Wong, 2003). El entendimiento de la fisiología y bioquímica detrás de estos procesos es importante al tratar de aplicar esta tecnología en la recuperación de un sitio contaminado. El Hg, en particular, se caracteriza por ser uno de los metales más difíciles de remover en un suelo contaminado mediante tecnologías basadas en plantas. Existen cinco procesos de suma importancia en la fitorremediación de metales tóxicos y otros contaminantes (Fig. 5). 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:

- Fitoestabilización: algunos metales tóxicos en el suelo pueden ser concentrados y contenidos en la rizósfera. Este proceso, en si, sólo reduce la movilidad del metal en el perfil del suelo y previene la migración del contaminante a aguas profundas. Diferentes procesos en la rizósfera estimulan la precipitación y conversión de los metales en el suelo a formas insolubles disminuyendo su biodisponibilidad (Susarla et al., 2002).
- Fitoacumulación: también se denomina fitoextracción, tiene como fin la remoción de un contaminante a partir del suelo, aguas superficiales o semi-profundas. La fitoacumulación ocurre cuando el contaminante es tomado por la planta y no es degradado rápida o completamente, concentrándose en órganos superiores de ésta tales como el tallo y las hojas (Arthur et al., 2005). Si el objetivo en el proceso de remediación consiste en la cosecha de las plantas acumuladoras, lo más deseable es que las especies a usar puedan translocar los contaminantes desde las raíces a órganos como el tallo y las hojas. Si los contaminantes permanecen en las raíces, la cosecha

o recuperación del material vegetal que contiene al contaminante puede ser difícil. En este proceso se requieren plantas no sólo tolerantes a los metales tóxicos, sino que además deben tener un alto porcentaje de acumulación y producción de biomasa (Römkens et al., 2002). Se han identificado alrededor de 400 especies de plantas hiperacumuladoras de metales, lo que amplía el interés en este tipo de fitorremediación (Baker et al., 2000). Las especies hiperacumuladoras se caracterizan por tener por lo menos 100 veces el contenido del metal, en comparación con aquellas especies encontradas en el mismo suelo bajo las mismas condiciones (Nedelkoska y Doran, 2000).

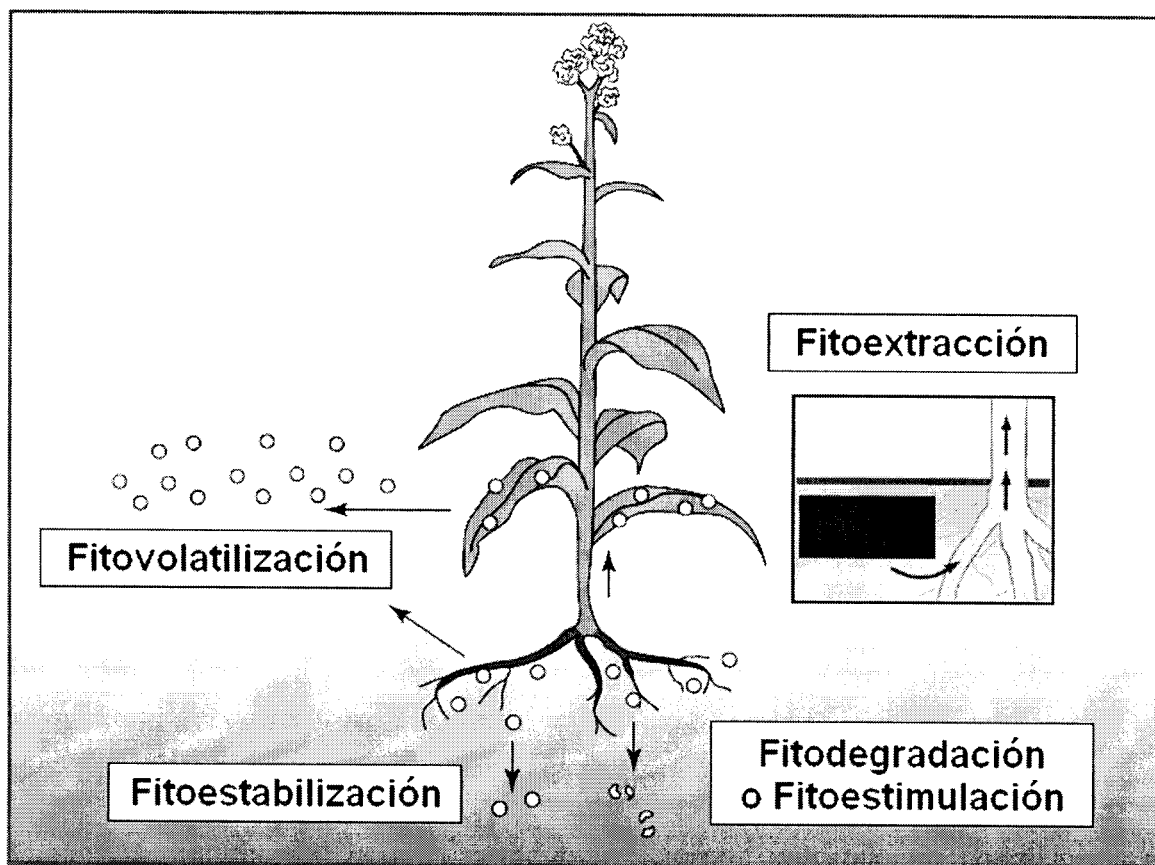


Fig. 5 Algunos procesos básicos en la fitorremediación de suelos contaminados.

- Fitovolatilización: esta técnica implica un mecanismo mediante el cual las plantas convierten un contaminante a una forma volátil, removiendo así el contaminante del suelo o agua en un sitio contaminado. Plantas transgénicas han mostrado gran efectividad al expresar los genes *MerA* y *MerB* y convertir formas orgánicas e iónicas de Hg a la forma elemental Hg (0), transpirando el elemento al aire (Bizily et al., 2003; Heaton et al., 2005; Rugh et al., 1998). Una vez volatilizado, el Hg puede permanecer en el aire y/o ser transportado.
- Rizofiltración: es el uso de las raíces de las plantas para absorber, adsorber, concentrar y precipitar metales tóxicos en agua (Raskin et al., 1997).

Ventajas y desventajas de la fitorremediación

El desarrollo de la fitorremediación como una tecnología es impulsado esencialmente por el alto costo que representa el uso de otros métodos de remediación de suelos y agua. La fitorremediación es considerada aún como una tecnología emergente y, por lo tanto, en desarrollo. Diferentes autores (Evans, 2002; Linacre et al., 2005; Pulford y Watson, 2003; Salt, 1998; Watanabe, 2001) han dado muestra de las ventajas y desventajas que posee esta tecnología.

Ventajas:

- Es una tecnología limpia que usa energía solar.
- Las plantas son usadas como bioreactores, operando en condiciones no estériles.
- Irrupción ambiental mínima, el tratamiento *in situ* preserva la capa superior de suelo y evita la excavación.

- Es útil ante una gran variedad de contaminantes ambientales.
- De bajo costo, hasta un 60 – 80% menos que los métodos tradicionales de remediación.
- No requiere de equipo costoso o personal altamente especializado.
- Fácil de instaurar.
- Es posible su aplicación a gran escala.

Desventajas:

- Sólo es útil para sitios con un nivel de contaminación medio, moderado o bajo.
- Se requiere de mucho tiempo para restaurar un sitio.
- Su aplicación se encuentra limitada por las condiciones de tipo geológico, edáficas y climáticas particulares del sitio contaminado.
- Las plantas que absorben metales tóxicos pueden ser de gran riesgo para la vida silvestre al introducir dichas sustancias en la cadena trófica.
- El uso de especies invasivas, no nativas puede afectar la biodiversidad.
- La biomasa cosechada que concentra los contaminantes puede ser clasificada como material peligroso, por lo tanto, debe haber especial cuidado en el manejo y disposición del mismo.

Toxicidad e interacción del Hg con las plantas.

Muchos iones metálicos son esenciales en cantidades traza, pero a grandes concentraciones se vuelven tóxicos. Estos elementos han sido adquiridos en el curso de la evolución debido a sus propiedades químicas, por ejemplo, actividad de óxido-reducción bajo condiciones fisiológicas (Cu, Fe). Las mismas propiedades que hacen a estos metales de transición indispensables para la vida, también son la razón por la que se vuelven fácilmente tóxicos cuando se encuentran en exceso. Muchos iones metálicos, pueden participar en reacciones tipo Haber-Weiss y Fenton, causando la formación de radicales libres.

| La incorporación de elementos metálicos en formas biológicas durante la evolución no responde sólo a las propiedades químicas inherentes, sino también a la abundancia de los elementos en la corteza terrestre. Los iones metálicos extraídos del suelo son utilizados como electrolitos, solutos, señalizadores, co-factores y componentes de proteínas y diferentes moléculas estructurales. Entre los iones metálicos que pueden ser extraídos por una planta a partir del medio, se encuentran elementos esenciales tales como el Ca, Cu, Fe, K y elementos tóxicos como el Pb, As, Cd y Hg (Chen y Cutright, 2001; Chunilall et al., 2005).

Diferentes estudios de laboratorio han mostrado la capacidad de las raíces para incorporar Hg a partir de una solución. La acumulación del elemento se da en mayor cantidad en las raíces que en estructuras vegetales superiores (Du et al., 2004; Greger et al., 2005; Rellán-Álvarez et al., 2006; Shanker et al., 1996; Wang y Greger, 2004). La incorporación de Hg a través del aire, del suelo o el agua, puede afectar de manera negativa diferentes procesos fisiológicos y bioquímicos en las plantas (Patra y Sharma, 2000).

Los cationes de Hg tienen una gran afinidad por grupos sulfidrilo (-SH) y, por consecuencia, pueden perturbar diferentes funciones biológicas. Un ión de Hg

puede unirse a dos sitios de una proteína sin deformar la cadena, aunque también puede unir dos cadenas adyacentes o en el peor de los casos, una gran concentración de Hg puede llevar a la precipitación total de proteínas. La acción tóxica del Hg es tal, que puede llevar a la inactivación de una gran variedad de enzimas intracelulares (Patra et al., 2004). Los iones de Hg tienden a formar enlaces covalentes, pueden unirse al DNA e inducir cambios en cromátidas hermanas en el núcleo celular (Cavallini et al., 1999).

El Hg también puede inhibir la conductividad hidráulica, desequilibrar la absorción de nutrientes, afectar reacciones, tanto de fase luminosa, como de fase oscura en la fotosíntesis e irrumpir la integridad estructural de membranas celulares (Haldimann y Tsimilli-Michael, 2002; Maggio y Joly, 1995; Patra y Sharma, 2000; Zhang y Tyerman, 1999). 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 (Fig. 6). Las fitoquelatinas 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.

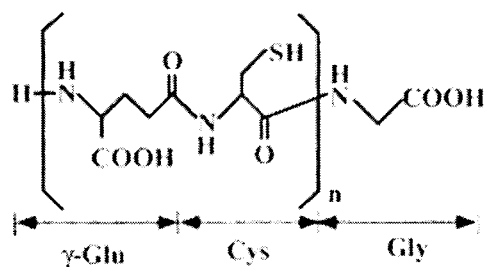


Fig. 6 Estructura general de las fitoquelatinas, generalmente indicadas como $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ donde $(n = 2-11)$. Muchos iones metálicos pueden unirse a los átomos de azufre de las moléculas de las PC's, formando así complejos amorfos.

Las fitoquelatinas son sintetizadas a partir del complejo glutatión por la enzima PC sintasa, la estructura primaria de las fitoquelatinas generalmente consiste en $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ ($n=2-11$). Las fitoquelatinas pueden formar complejos con metales tales como Cd, Cu, Zn, Ag y Hg (Hirata et al., 2005; Mejáre y Bülow, 2001). Rajesh et al., (1996) reportaron que la fuerza de unión del Hg (II) a los complejos glutatión y fitoquelatinas, ocurre de la siguiente manera: $\gamma\text{-Glu-Cys-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_3\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_4\text{-Gly}$. Asimismo, Subhadra et al., (1993) encontraron que, en comparación con plántulas normales, aquellas tratadas con Hg mostraban una gran cantidad de SH no proteico, indicando así el posible papel desempeñado por parte de las fitoquelatinas en una respuesta adaptativa mediada por la exposición al metal.

Justificación

Hoy en día la contaminación por Hg representa un problema ambiental global. Existen diferentes sitios en el mundo (incluyendo México) en espera de ser rehabilitados. La fitorremediación es considerada una técnica amigable con el ambiente, de bajo costo para remediar suelos contaminados *in situ* y que ya ha sido probada para algunos metales pesados. La pregunta de qué tan factible es dicha técnica para ser aplicada en suelos contaminados con Hg, aún permanece abierta. Las plantas a ser usadas en tecnologías de fitorremediación de Hg deben caracterizarse por tolerar la toxicidad del metal.

Más de veinte sitios en nuestro país han sido identificados por tener concentraciones elevadas de Hg. Lo particular es que todos estos sitios tienen una cobertura vegetal establecida (en mayor o menor grado). Las especies que habitan en estos suelos, además de resistir la gran toxicidad del metal podrían estar incorporando y acumulando una cantidad dada de Hg. En este trabajo, se busca seleccionar especies de plantas silvestres que habitan en sitios contaminados con Hg y que presentan una alta concentración del metal en sus tejidos.

El estudio se realizó en tres localidades. La primera se encuentra en el municipio de Guadalupe, Zacatecas, en una zona minera, que por sus condiciones geomorfológicas ha favorecido el depósito de jales de mineros que contienen Hg; la segunda se encuentra en el municipio de Vetagrande, Zacatecas, en una zona caracterizada por tener suelos con un alto índice de contaminación de metales pesados. La tercera se encuentra en el municipio de Taxco, Guerrero. Este sitio se caracteriza por ser el punto de extracción primaria de Hg de diferentes minas aledañas y tener espacios usados como rellenos de material residual contaminado.

México, es un área donde plantas hiperacumuladoras (metalofitas) y tolerantes a metales tóxicos pueden ser encontradas, no sólo por la gran cantidad de sitios contaminados que alberga sino además por su alta y única diversidad en especies de plantas. Las localidades bajo estudio podrían albergar especies acumuladoras de Hg. Si esta vegetación nativa, no es listada y evaluada, especies tolerantes al Hg y/o genotipos (ecotipos), estarían pasando por desapercibido. Su detección es una aportación fundamental para el desarrollo de la biorremediación de suelos contaminados por Hg en México. Además, el hecho de poder encontrar y dar uso a plantas acumuladoras nativas, podría eliminar el inconveniente del uso de plantas exóticas en nuestro país al aplicar esta tecnología.

Objetivos

General

- Buscar y seleccionar plantas silvestres que habitan en suelos de zonas mineras contaminadas con Hg, particularmente en Zacatecas y Guerrero, que presenten una alta cantidad de concentración de este metal tóxico en sus tejidos.

Particulares

- Realizar un muestreo de plantas silvestres que habitan en suelos contaminados con Hg.
- Determinar la concentración de Hg total en las especies vegetales recolectadas.
- Seleccionar las especies con mayor contenido de Hg para realizar estudios en laboratorio de resistencia al metal.
- Establecer las condiciones óptimas de germinación de las especies seleccionadas.
- Determinar la concentración máxima de Hg en la cual pueden crecer las plantas sin presentar síntomas de fitotoxicidad e inhibición de crecimiento.

Método

Elección y caracterización de los sitios de muestreo

El presente estudio se realizó en tres localidades de México: La Zacatecana, municipio de Guadalupe y El Lampotal, municipio de Vetagrande, ambas en el estado de Zacatecas y por último, la localidad de Huahuaxtla, municipio de Taxco, perteneciente al estado de Guerrero. Para el caso de La Zacatecana y el Lampotal, la elección de las localidades obedeció que ambas son consideradas como sitios peligrosos, al contener en sus suelos sustancias con características de peligrosidad, tal y como lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM052ECOL-1994. Para el caso de la localidad de Huahuaxtla, la elección obedeció a que se caracteriza por ser un sitio de extracción primaria de mercurio y por tener, a su alrededor, por lo menos siete minas de este metal (Acosta y Asociados, 2002).

Localidad “La Zacatecana”

El ejido de La Zacatecana se encuentra en el municipio de Guadalupe, en el estado de Zacatecas, aproximadamente a 10 Km. al oriente de la ciudad de Zacatecas, con las coordenadas: Latitud Norte 22°44'50", Longitud Oeste 102°28'10". El ejido alberga a la presa El Pedernalillo, también conocida como La Zacatecana, ya que toma el nombre de la comunidad. En la presa La Zacatecana, desde la época colonial, se acumularon depósitos de jales procedentes de un gran número de viejas minas en Zacatecas, lo que propició la contaminación con metales pesados, tales como plomo (Pb), mercurio (Hg), plata (Ag), cadmio (Cd), arsénico (Ar), etc., (Iskander et al., 1994); el agua de la laguna es utilizada principalmente para riego de cultivos.

Los sedimentos en la presa y los suelos alrededor de la misma se caracterizan por tener entre 100-800 ppm de Hg; hasta el 2001, varias empresas mineras aún extraían diferentes metales, incluido el Hg, de estos suelos y

sedimentos denominados jales; en la actualidad, diferentes proyecciones muestran un gran contenido de Hg y otros metales aún por ser extraídos de los sedimentos y suelos cercanos a la presa La Zacatecana (Núñez, 2002). En esta localidad se marcaron dos puntos de muestreo. El primer punto (Z1) fue establecido en suelo a tres metros de distancia de la presa, mientras que el segundo (Z2) fue establecido en jales depositados en una empresa abandonada (Fig. 7).

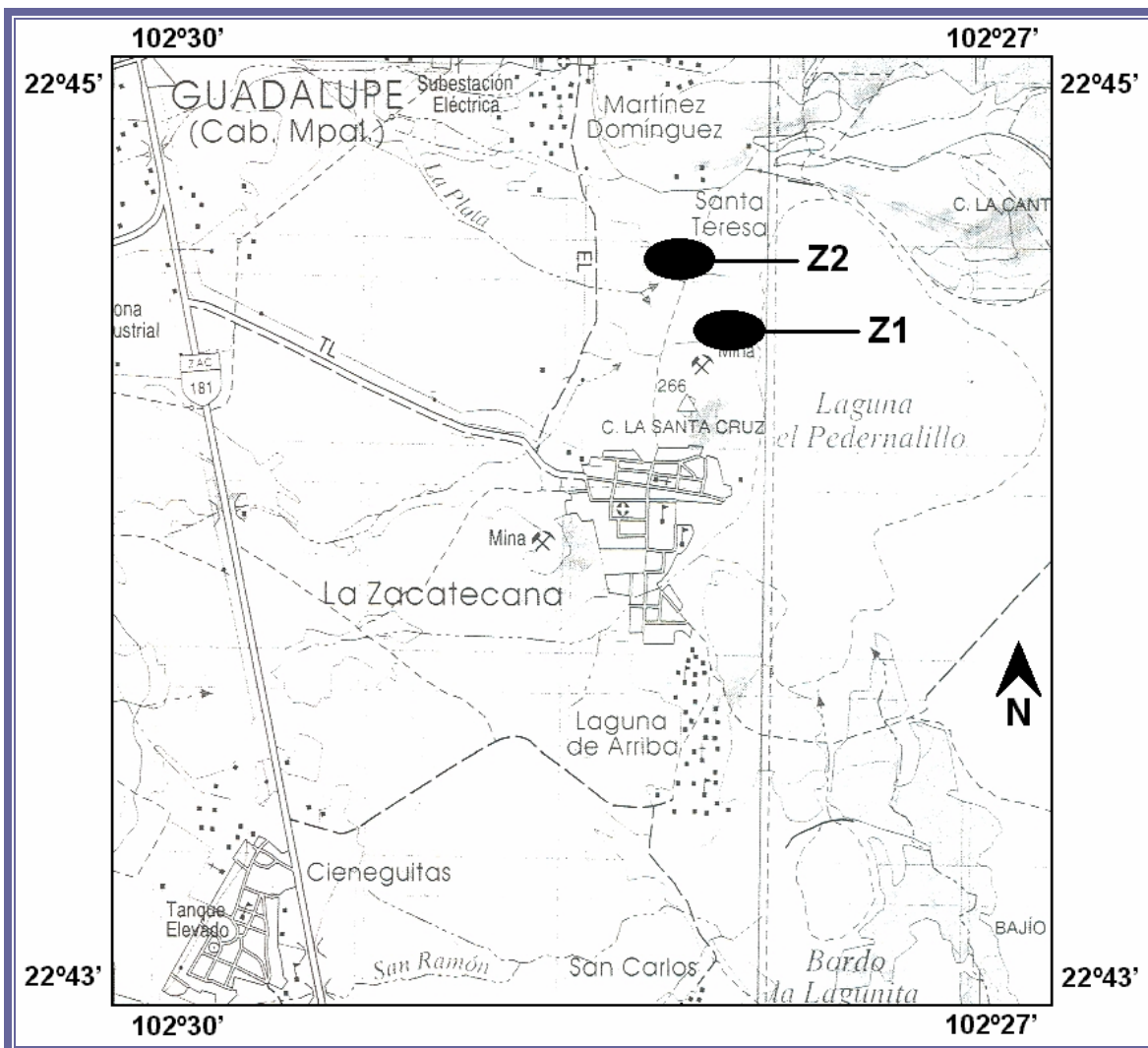


Fig. 7 Localización de los puntos de muestreo en “La Zacatecana”, municipio de Guadalupe, Zacatecas.

La población del ejido de La Zacatecana en el 2000 era de 2475 habitantes, es una zona de perfil predominantemente rural. Con el paso del tiempo las tierras contaminadas en esta zona se han utilizado en labores de agricultura, ganadería y desarrollo urbano principalmente. Los principales cultivos son de frijol, maíz, avena, entre otros, la actividad pecuaria es dirigida a la crianza y reproducción de ganado bovino, ovino y caprino (Contreras et al., 2002). Las plantas en esta zona son usadas además para forrajeo de ganado, el cual podría estar ingiriendo partículas de suelo depositadas en las superficies de las mismas; todo esto, aunado a la ingesta de partículas de polvo mediante el mecanismo boca-mano e inhalación por parte de los habitantes, representan rutas importantes de exposición al mercurio. Cabe resaltar que diferentes suelos de estas zonas de cultivo, rebasan la concentración recomendada (20 mg/kg) para un suelo destinado a actividades agrícolas (Santos-Santos et al., 2006). Por otro lado, habitantes de la zona, dan uso a los residuos provenientes del reprocesamiento de jales para la elaboración de ladrillo (Núñez, 2002). Los trabajadores de las plantas de reprocesamiento de jales son un sector bajo riesgo, ya que en éstos han sido detectados niveles de Hg en la orina que llegan hasta los 1.138 mg/l, valor por encima de aquel encontrado en una población común (0.005 mg/l), (Núñez, 2002).

Localidad "El Lampotal"

La localidad de El Lampotal se encuentra en el municipio de Vetagrande, en el estado de Zacatecas, aproximadamente a 20 kilómetros de la localidad de La Zacatecana, en las coordenadas: Latitud Norte 22°54'10", Longitud Oeste 102°24'50". Desde tiempos de la Colonia, en la región de Vetagrande se desarrolló la extracción y el beneficio de minerales metálicos, utilizando el Hg para amalgamar los elementos. Ante la falta de control de los desechos mineros, se propició la contaminación de suelos con metales pesados tales como el plomo (Pb) , plata (Ag), mercurio (Hg), arsénico (Ar), cadmio (Cd), etc. En esta localidad aún se encuentra una empresa dedicada a la extracción de minerales tales como

el oro (Au), la plata (Ag) y el mercurio (Hg) a partir de jales en la zona (Ogura et al., 2003). En este sitio se marcó un tercer punto de muestreo (Z3) (Fig. 8).

La población de El Lampotal en el año 2000 era de 1389 habitantes, las extensiones de tierra en esta zona son usadas para cultivos principalmente, algunos de estos campos agrícolas son usados también como materia prima de recicladoras de jales de mercurio, plomo, oro y plata; para esta zona la principal vía de biodisponibilidad de metales tóxicos es el suelo, a partir del cual puede llegar a los diferentes sectores de la población mediante ingesta o inhalación.

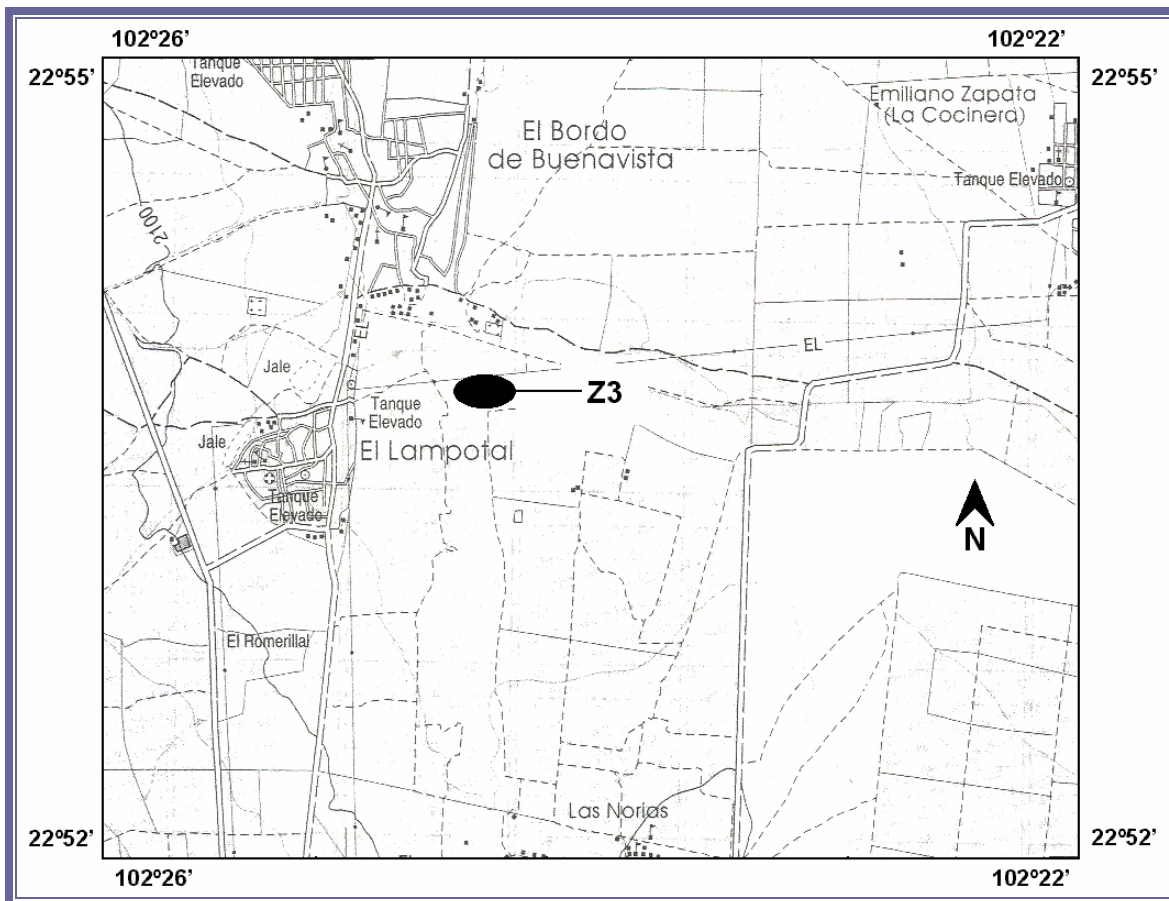


Fig. 8 Localización de los puntos de muestreo en “El Lampotal”, municipio de Vetagrande, Zacatecas.

Cabe resaltar que la mayoría de las casas en esta zona están hechas de adobe y los pisos de las mismas son en gran parte de tierra, al igual que los patios y muchas de las calles no principales. Para esta localidad no se tiene un estudio epidemiológico concerniente a toxicidad por mercurio, sin embargo, se han realizado muestreos que involucran al plomo, otro de los metales presentes en los suelos de Vetagrande. En esta evaluación, se encontraron valores de plomo en sangre de infantes en más del 70% de la muestra analizada, cuyo valor rebasa el considerado como normal (Manzanares et al., 2005). Según lo anterior, se puede inferir un problema similar en la población ante el Hg.

Localidad "Huahuaxtla"

La localidad de Huahuaxtla, se encuentra en el municipio de Taxco de Alarcón, en el estado de Guerrero, se ubica en las coordenadas: Latitud 18°24'50", Longitud 99°37'35". El estado de Guerrero se caracteriza por estar en una zona geológica identificada como rica en Hg, esto lo ha convertido en uno de los estados con más minas de Hg, aproximadamente 58 (Acosta y Asociados, 2002). La localidad de Huahuaxtla se caracteriza por estar rodeada de por lo menos 7 minas de este metal entre las que destacan: San Luis, La Aurora y Cinco Cervezas, por su cercanía a la ciudad de Taxco. En esta localidad fue construido un centro de operaciones de extracción primaria de Hg, que dejó de funcionar hace aproximadamente 30 años. Las actividades de extracción, generaron dos grandes depósitos de residuos minerales con Hg, que en la actualidad se encuentran al aire libre. Para esta zona no existen datos oficiales reportados de niveles basales de Hg en los suelos generados sobre los rellenos. Aquí se seleccionaron dos puntos de muestreo (H1) y (H2), ambos bajo el criterio de abundancia en la cobertura vegetal (Fig. 9).

La localidad de Huahuaxtla es de tipo rural y en el año 2000 tenía una población de 604 habitantes, de los cuales sólo 136 eran económicamente activos, las principales actividades dentro de la población son de tipo agropecuario, gran

parte de la población depende de actividades de minería primaria en la zona de Taxco (INEGI, 2000). Para esta localidad, las principales vías de biodisponibilidad surgen a partir del suelo, ya que las plantas silvestres establecidas sobre estos rellenos son usadas para actividades de forrajeo en ganado (obs. pers.). Además, al no tener una cubierta vegetal uniforme, la superficie está expuesta a erosión e intemperismo. Para esta localidad no se tiene estudio epidemiológico alguno, como es el caso de las dos localidades anteriores. Pero dadas las magnitudes de los rellenos con residuos de Hg y la proximidad a la población, se infieren problemas y daños a la salud como resultado de la exposición.

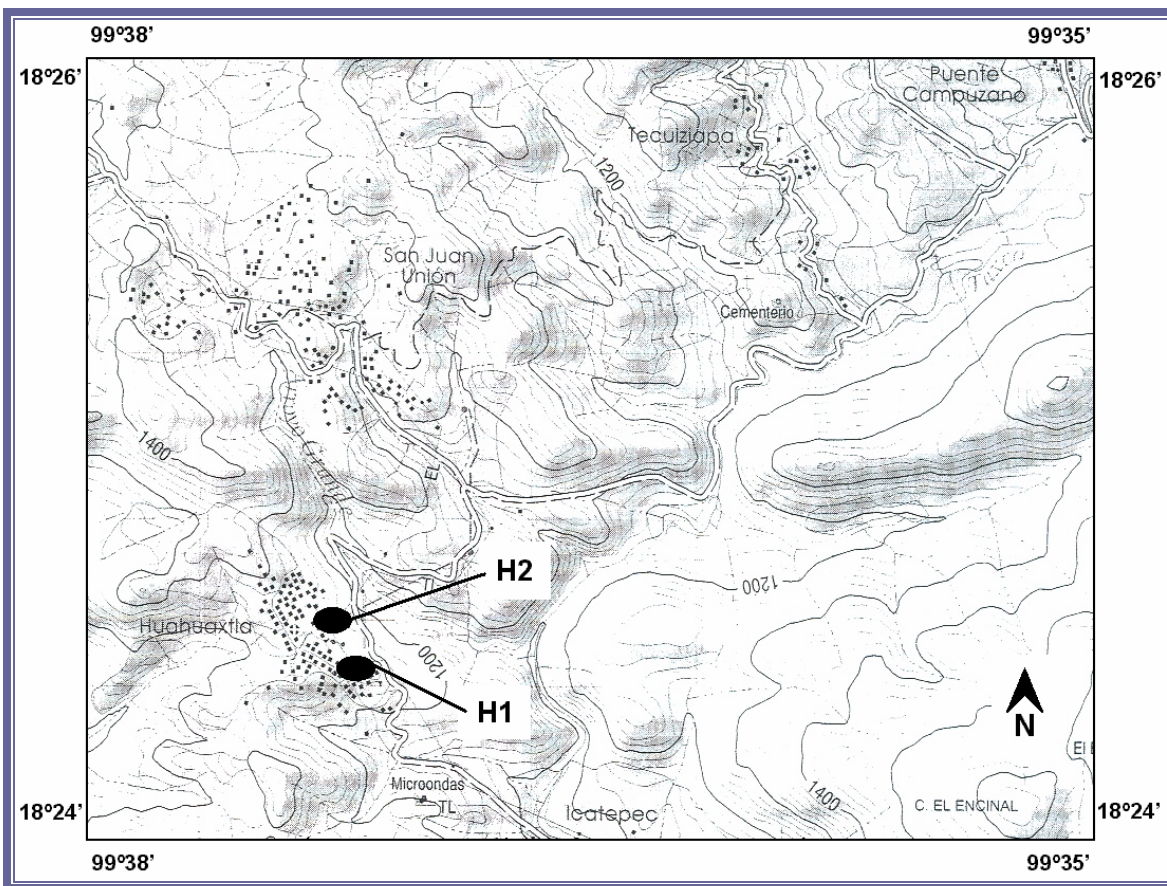


Fig. 9 Localización de los puntos de muestreo en “Huahuaxtla”, municipio de Taxco, Guerrero.

Selección y muestreo de plantas

En cada zona contaminada bajo análisis, los sitios de muestreo fueron elegidos bajo los siguientes criterios: cubierta vegetal establecida, densidad de la cubierta vegetal, color y textura del suelo, estado aparente del material vegetal (síntomas de fitotoxicidad) y especies con una alta producción de biomasa. En cada punto de muestreo las especies vegetales fueron tomadas por triplicado, tomando en cuenta que las mismas presentaran aproximadamente el mismo estado fenológico. Los ejemplares vegetales recolectados fueron depositados en bolsas de papel y trasladados al laboratorio para un análisis posterior de contenido de Hg total.

Identificación del material vegetal recolectado

Para cada especie recolectada, se anotó su estado fenológico (plántula, vegetativo, flor, fruto) al igual que la forma biológica (herbácea, arbustiva, arbórea). Para la identificación del material botánico recolectado, a nivel de familia y de género, se utilizaron las obras de Sánchez (1976), Ramamoorthy (1998) y Rzedowski et al., (2001). En la determinación a nivel de especie se requirió la asesoría de especialistas del Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME, UNAM). Para comprobar la identificación de las especies recolectadas, se utilizó la colección del Herbario Nacional de México (MEXU). Un ejemplar de cada una de las especies recolectadas, se depositó en la colección del herbario (MEXU).

Preparación del material vegetal

El material vegetal fue procesado inmediatamente después de su colecta en campo, esto con la finalidad de prevenir actividad biológica de descomposición y volatilización del metal en cuestión. Los diferentes órganos de las plantas fueron

separados. Las raíces fueron lavadas varias veces con agua destilada, con la finalidad de eliminar partículas minerales adsorbidas a la superficie (Conesa et al., 2007; Rossini y Valdés, 2004). El mismo procedimiento se llevó a cabo para el tallo. Los tejidos de las plantas fueron colocados en bolsas individuales de papel y secadas a 70° C. Después de la deshidratación, todas las muestras fueron molidas en un mortero de porcelana usando nitrógeno líquido, las muestras molidas fueron colocadas en contenedores de plástico para posterior análisis de la concentración de Hg.

Digestión del material vegetal

Las concentraciones de Hg total en todas las muestras vegetales fueron determinadas tras una digestión ácida, que se llevó a cabo mediante vasos de digestión cerrada de microondas. Para cada especie analizada se pesaron de manera precisa 200 mg de material vegetal molido, 100 mg de raíces y 100 mg de tallo. La mezcla de 200 mg para cada especie fue depositada en vasos de digestión de Teflón. A cada vaso se le agregaron 10 mL HNO₃ (70%, purificado por redestilación, 99.999+ %, SIGMA-ALDRICH). Los vasos de Teflón fueron expuestos a microondas (MDS-2000, CEM Corp.), bajo un programa de digestión con una temperatura máxima de 175 °C (Tabla 1). Comúnmente se utiliza una temperatura de 225 °C para otros metales, pero se utilizó un máximo de 175 °C para evitar pérdidas por volatilización del Hg durante la digestión.

Tabla 1. Programa de digestión del horno de microondas.

| Paso | Tiempo (Minutos) | Temperatura (°C) |
|------|------------------|------------------|
| 1 | 4:30 | 130 |
| 2 | 4:00 | 150 |
| 3 | 14:00 | 175 |

Las muestras digeridas fueron filtradas usando papeles filtro (Whatman No. 42); cada una se llevó a un volumen final de 50 ml en un matraz volumétrico para luego transferirse a frascos de polipropileno de 50 ml, donde se preservaron hasta el análisis por espectrometría. La estabilización de las soluciones digeridas se logró mediante la adición de K_2CrO_7 (pa., Merck), con la finalidad de preservar el metal.

Análisis de Hg Total

El análisis de contenido de Hg total en las muestras digeridas se realizó mediante espectrometría de absorción atómica, por el método de vapor frío (CV-AAS) (SpectrAA-110.0; Varian. Generador de vapor frío, VGA 77). El procedimiento CV-AAS, es un método físico basado en la absorción de radiación a 253.7 nm por el vapor de Hg. Los compuestos orgánicos e inorgánicos son oxidados, luego el Hg es reducido a su estado elemental y aireado a partir de la solución en un sistema cerrado. El vapor de Hg pasa a través de una celda posicionada en el camino de un haz de luz del espectrómetro de absorción atómica. El instrumento fue calibrado mediante un estándar líquido, preparado a partir de una solución estándar de Hg de Merck, 1000 mg L^{-1} . Todos los reactivos usados fueron de grado analítico. Para el análisis, se utilizó 0.3 % $NaBH_4$ (pa., Merck) en 0.5% $NaOH$ (pa., Merck) como agente reductor y solución 5% HCl (pa., Merck), para convertir los iones Hg en Hg^0 . Las lecturas de Hg fueron obtenidas a partir de diferentes réplicas ($n = 3$).

Establecimiento de condiciones óptimas de germinación

Dado que las especies a tratar son silvestres, fue necesario determinar requerimientos de germinación bajo condiciones de laboratorio: luz fluorescente ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), temperatura ($25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$), humedad ($70 \pm 5\%$). Para las pruebas de germinación, las semillas a usar fueron esterilizadas y colocadas en contenedores con medio de cultivo (medio basal Murashige & Skoog (M.S.), 30% sacarosa, 0.8% agar, pH 5.7). Las plantas se cultivaron a una temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y bajo un periodo 16/8 h luz-oscuridad, hasta conseguir los mejores porcentajes de germinación. El conteo de germinación se registró diariamente hasta detectar ausencia homogénea de semillas con brote de radícula.

Pruebas de resistencia a Hg

Se desarrolló un experimento hidropónico para caracterizar la fitotoxicidad del Hg en plántulas de tres especies: *Bidens odorata* Cav., *Crotalaria pumila* Ort. y *Salvia rhyacophila* Epling. Semillas de dichas especies, fueron germinadas y cultivadas en macetas con mineral de perlita húmeda. Las plántulas fueron suministradas con agua diariamente y dos veces por semana con solución Murashige & Skoog (M.S.), (Tabla 2). Treinta y cinco días después de la germinación, las plántulas fueron tratadas con diferentes concentraciones de HgCl_2 (0, 3, 5, 10, 20 mg l^{-1}) en agua, bajo condiciones de invernadero. Las plantas sobrevivientes, después de 15 días de tratamiento, fueron recolectadas y secadas durante 48 h a $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$; finalmente fueron pesadas para la determinación de biomasa.

Tabla 2. Composición de la solución nutritiva.

| Nutriente | Concentración |
|--|--------------------------|
| NH ₄ NO ₃ | 1650 mg L ⁻¹ |
| KNO ₃ | 1900 mg L ⁻¹ |
| CaCl * 2H ₂ O | 440 mg L ⁻¹ |
| MgSO ₄ * 7H ₂ O | 370 mg L ⁻¹ |
| KH ₂ PO ₄ (Monobásico) | 170 mg L ⁻¹ |
| Na ₂ EDTA | 37.3 mg L ⁻¹ |
| FeSO ₄ | 27.8 mg L ⁻¹ |
| H ₃ BO | 6.2 mg L ⁻¹ |
| MnSO ₄ * 4H ₂ O | 22.3 mg L ⁻¹ |
| ZnSO ₄ * 4H ₂ O | 8.6 mg L ⁻¹ |
| KI | 0.83 mg L ⁻¹ |
| Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O | 0.25 mg L ⁻¹ |
| CuSO ₄ * 5H ₂ O | 0.025 mg L ⁻¹ |
| CoCl ₂ * 6 H ₂ O | 0.025 mg L ⁻¹ |

Resultados

Para poder rehabilitar suelos contaminados con Hg mediante procesos de fitoextracción, se requiere seleccionar plantas con un alto potencial, es decir, plantas con una alta tolerancia a este metal tóxico, para que las raíces puedan penetrar y extraer el contaminante de manera eficiente a partir de los suelos contaminados con Hg de manera heterogénea. Se registraron un total de 13 especies de plantas vasculares silvestres, establecidas sobre las zonas de estudio (Tabla 3).

Tabla 3. Lista de especies vegetales registradas en los sitios de estudio.

| Localidad | Especies Recolectadas | Clave (MEXU) |
|-----------|---|--------------|
| Z1 | <i>Trisetum virletti</i> Fourn. | 1038877 |
| | <i>Panicum decolorans</i> HBK. | 1030091 |
| Z2 | <i>Nicotiana glauca</i> Graham. | 1030927 |
| | <i>Sphaeralcea angustifolia</i> Cav. | 1180409 |
| | <i>Bidens odorata</i> Cav. | 1181007 |
| Z3 | <i>Brassica rapa</i> L. | 1182681 |
| | <i>Chloris virgata</i> Sw. | 1181112 |
| | <i>Amaranthus hybridus</i> L. | 1175348 |
| H1 | <i>Aegopogon tenellus</i> (DC) Trin. | 1011679 |
| | <i>Simsia lagasceiformis</i> DC. | 1182195 |
| | <i>Tithonia tubaeformis</i> (Jacq.) Cass. | 1036138 |
| H2 | <i>Bidens odorata</i> Cav. | 1152405 |
| | <i>Salvia rhyacophila</i> Epling. | 1112385 |
| | <i>Crotalaria pumila</i> Ortega. | 1085560 |

Bioacumulación de Hg en las especies analizadas

Del total de especies vegetales registradas de manera inicial en las tres localidades, se seleccionaron y analizaron 7 de 4 puntos contaminados con Hg, éstas fueron seleccionadas debido a que se caracterizan por presentar una mayor producción de biomasa y menores síntomas aparentes de fitotoxicidad.

Las concentraciones promedio del contenido de Hg total en distintas plantas, se presentan en la Tabla 4. Las diferentes especies vegetales colectadas en los sitios de estudio muestran grandes diferencias en la acumulación de dicho metal. Se observaron valores de concentración mínimos de 0.25 ppm para el caso de la especie *S. lagaesciformis*, pero también se obtuvieron valores de 133 ppm para *B. odorata* y de hasta 207 ppm para *C. pumila*. De acuerdo con el análisis de varianza de una vía, se encontró una diferencia significativa en la concentración de Hg para cada especie ($F_{1,9} = 8.84$ $p < 0.0001$).

Tabla 4. Concentración de Hg en plantas recolectadas en sitios contaminados con Hg.

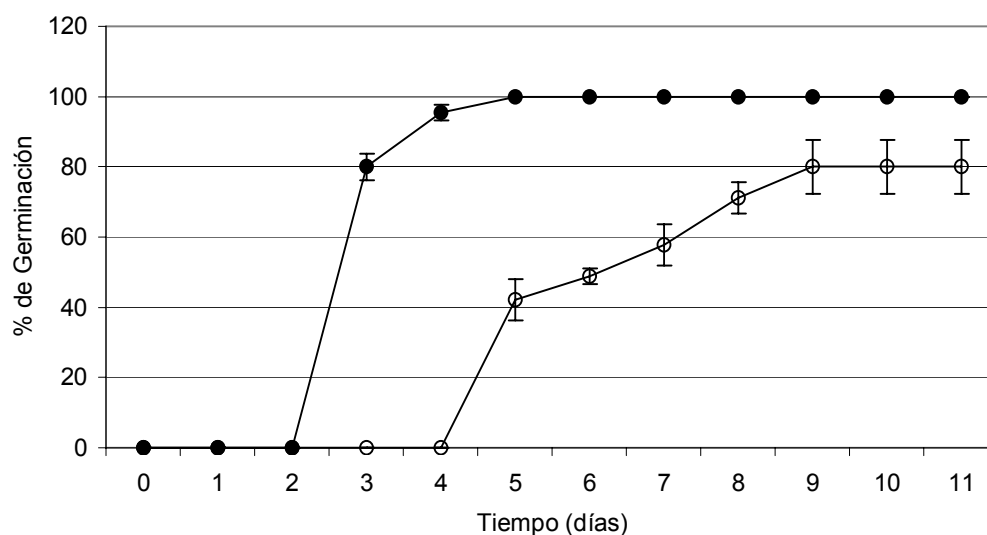
| Sitio | Especies Analizadas | Contenido de Hg (mg kg ⁻¹) |
|-------|--------------------------|--|
| Z2 | <i>B. odorata</i> | 5.90 ± 0.61 |
| Z2 | <i>S. angustifolia</i> | 6.66 ± 0.63 |
| Z3 | <i>C. virgata</i> | 9.37 ± 1.07 |
| Z3 | <i>B. rapa</i> | 10.22 ± 4.0 |
| H1 | <i>S. lagaesciformis</i> | 0.25 ± 0.08 |
| H1 | <i>T. tubiformis</i> | 0.73 ± 0.08 |
| H1 | <i>B. odorata</i> | 22.27 ± 1.14 |
| H2 | <i>S. rhyacophila</i> | 81.8 ± 6.96 |
| H2 | <i>B. odorata</i> | 133.79 ± 69.12 |
| H2 | <i>C. pumila</i> | 207.6 ± 29.69 |

Los datos representan valores promedio ± SE, $n = 3$.

Condiciones óptimas de germinación

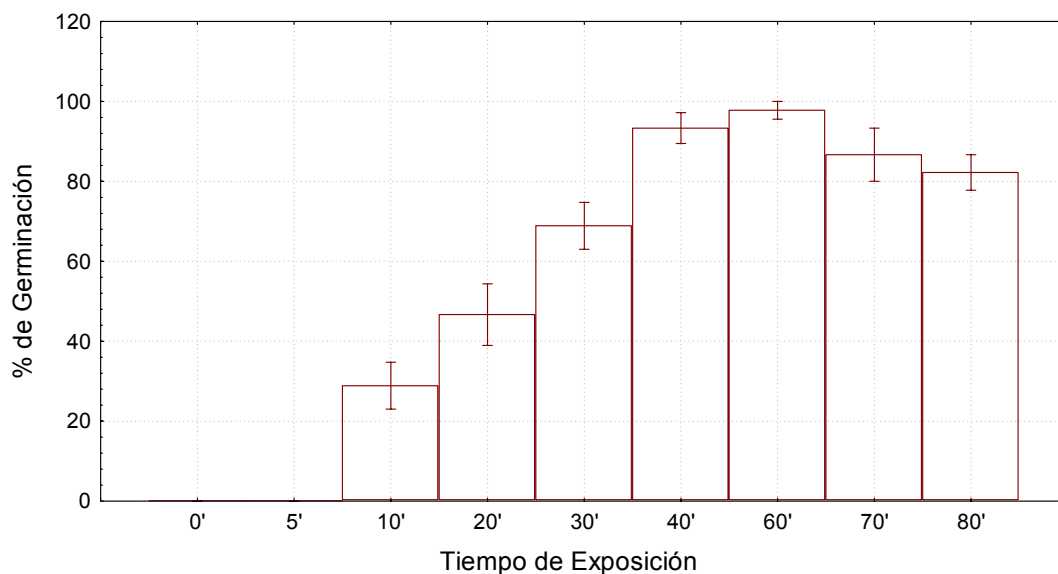
Las especies con las concentraciones más altas de Hg total: *S. rhyacophila*, *B. odorata* y *C. pumila* fueron seleccionadas para realizar pruebas de tolerancia y fitotoxicidad bajo condiciones de invernadero, esto con la finalidad de determinar su posible uso en tecnologías de fitorremediación.

Para *B. odorata*, fueron usadas semillas largas (aquenios largos) durante el experimento y se probaron dos variables: germinación bajo luz y germinación en oscuridad, ambas a una temperatura de 25°C. Se logró el mejor porcentaje de germinación (100 %) bajo condiciones luz, mientras que bajo oscuridad se logró sólo un 80 % (Gráfica 1). Además, el tiempo requerido de germinación es menor bajo condiciones de luz.



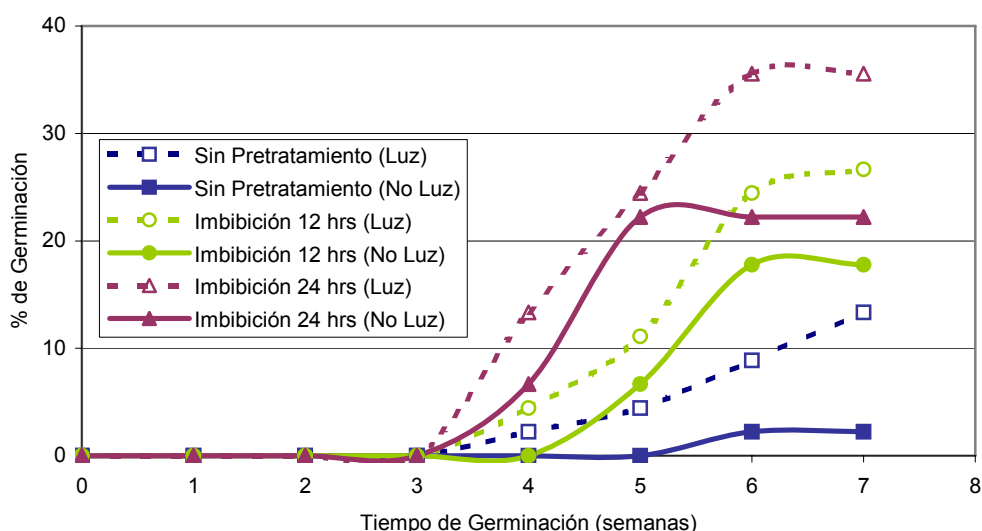
Gráfica 1. Germinación de las semillas de *B. odorata* bajo condiciones de (●) luz y oscuridad (○) a una temperatura de 25°C. Las figuras representan valores promedio de tres réplicas de 15 semillas cada una. Las barras verticales representan el error estándar de los valores promedio.

Las semillas de la especie *C. pumila* se caracterizan por tener una cubierta impermeable al agua. Para lograr la germinación de estas semillas y realizar la propagación, se les dio pretratamiento a las semillas mediante escarificación química para eliminar la testa. Se probaron diferentes tiempos de exposición a ácido sulfúrico concentrado (36N). La germinación se logró en una semana bajo condiciones de luz; los porcentajes de germinación mostraron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de escarificación ($F_{1,8} = 63.72$ $p < 0.0001$). Las placas control mostraron el porcentaje más bajo (0 %) y el porcentaje más alto fue para el tiempo de exposición de 60 minutos en ácido sulfúrico (97 %), otros tiempos mostraron porcentajes intermedios (Gráfica 2). En este caso no hubo necesidad de probar el proceso bajo condiciones de oscuridad, ya que la germinación se logró con relativa facilidad en presencia de luz.



Gráfica 2. Porcentajes de germinación para las semillas de *Crotalaria pumila* a diferentes tiempos bajo tratamiento por escarificación química con H_2SO_4 . Los datos representan valores promedio \pm SE de tres diferentes experimentos.

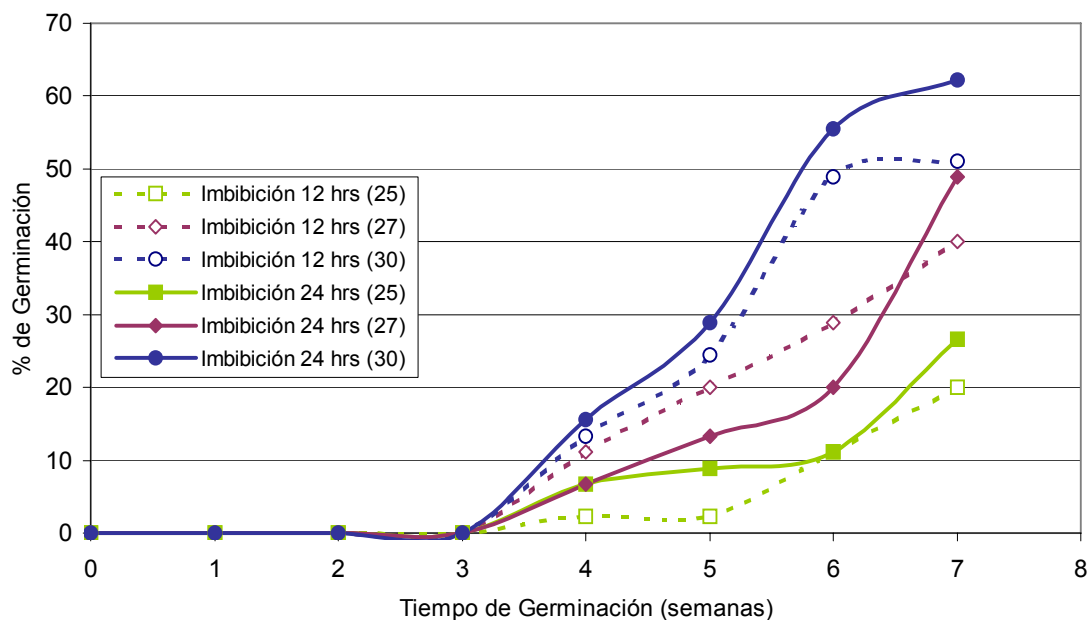
Las semillas de la especie *S. rhyacophila*, al igual que las semillas de otras especies, requieren de un estímulo para desencadenar el proceso de germinación. A una temperatura de 25°C, bajo condiciones de luz y en ausencia de la misma, los porcentajes obtenidos de germinación son extremadamente bajos (13 %) y sólo hasta después de la sexta semana (Gráfica 3). Cuando las semillas fueron incubadas tras dos diferentes periodos de imbibición, el beneficio del pretratamiento varió conforme a la duración del periodo de imbibición y la presencia o ausencia de luz durante la incubación a 25°C. Aunque el porcentaje final de germinación obtenido mejoró (35 %), el tiempo requerido se mantuvo constante, hasta después de la sexta semana de incubación (Gráfica 3).



Gráfica 3. Porcentajes de germinación a 25°C para *S. rhyacophila*, las figuras representan valores promedio.

Al aumentar la temperatura de incubación de 25 a 30°C, acoplado a los dos periodos de imbibición y en presencia de luz, se logró un mayor porcentaje final de semillas germinadas (62 %). Al mantener la misma temperatura de incubación (30°C) pero con una menor duración del periodo de imbibición (12 hrs.), el porcentaje final de germinación conseguido fue similar (51 %), el tiempo requerido

de germinación permaneció sin cambios y, en general, hasta después de la sexta semana (Gráfica 4).

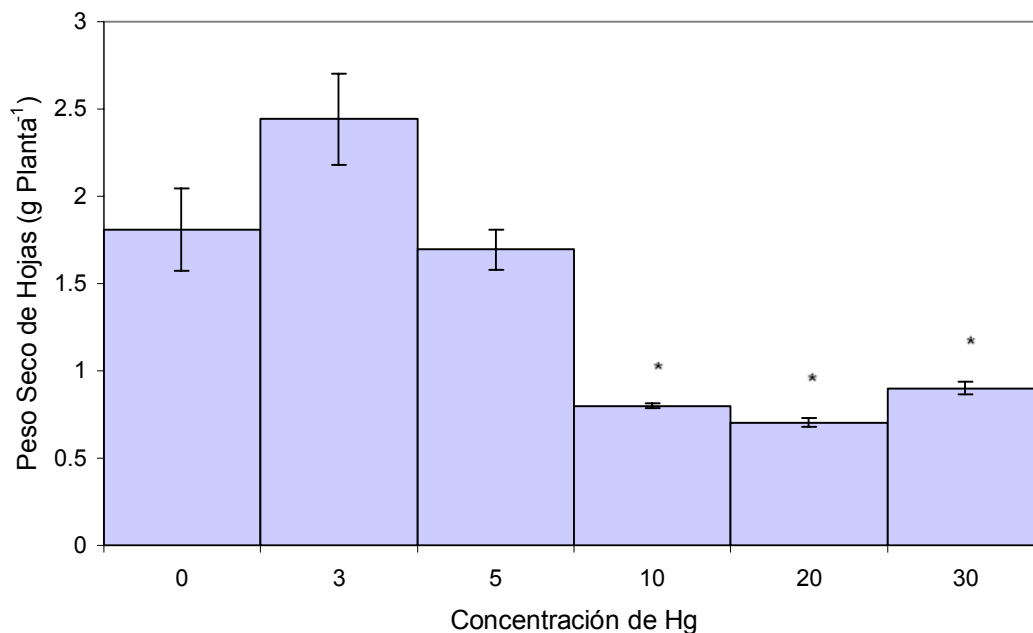


Gráfica 4. Influencia de la temperatura en la germinación final para las semillas de *S. rhyacophila*, las figuras representan valores promedio.

Sensibilidad al mercurio

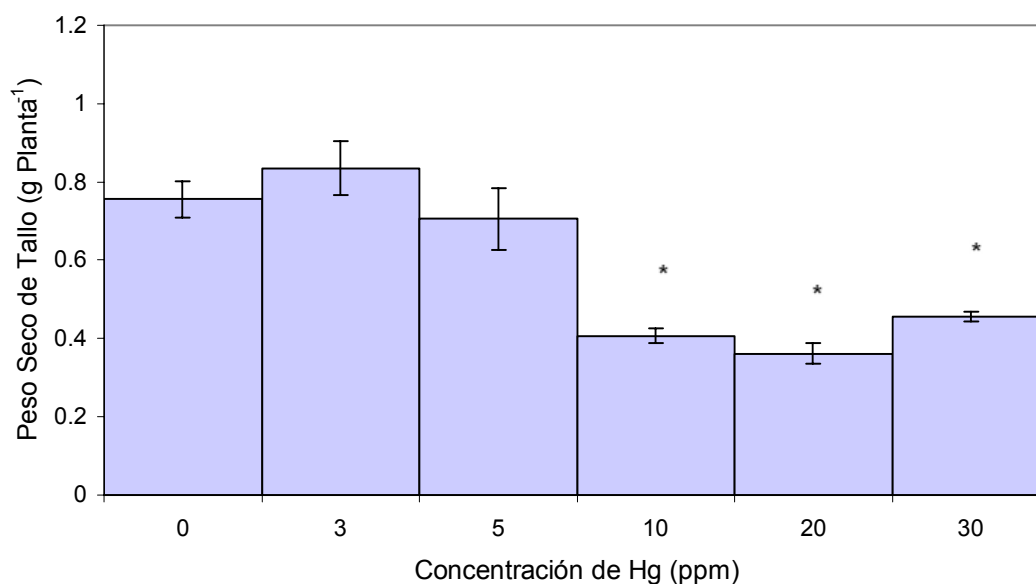
La fitotoxicidad del Hg y la resistencia al mismo, fueron probadas para dos especies: *B. odorata* y *S. rhyacophila*. La especie *C. pumila*, aun cuando en la cuantificación preliminar de Hg total mostró los valores más altos, no fue probada, debido a que no pudo ser establecida en cultivo bajo condiciones de invernadero. Respecto a las otras dos especies, se encontró una gran variación en la sensibilidad mostrada al ser cultivadas en solución con HgCl₂.

Durante el experimento hidropónico, la especie *B. odorata* sufrió daños considerables al cuarto día de tratamiento, aún con las concentraciones de HgCl_2 más bajas, el experimento fue interrumpido y esta especie fue descartada. La sensibilidad al Hg por parte de la especie *S. rhyacophila*, fue probada en términos de generación de biomasa (hojas, tallo y raíces). En el caso de las hojas, a medida en que se incrementó la concentración de Hg, la generación de biomasa decreció de manera significativa. De acuerdo con el análisis de varianza de una vía, se encontró un efecto significativo de la concentración de Hg sobre la biomasa ($F_{1,5} = 21.01$ $p < 0.0001$). Las plantas expuestas a las concentraciones 10, 20, 30 ppm mostraron un efecto mayor, mostrando diferencias significativas de las plantas control. Por el contrario, las plantas tratadas a concentraciones de 3 y 5 ppm., no mostraron diferencias significativas respecto a la biomasa lograda por las plantas control (Gráfica 5).



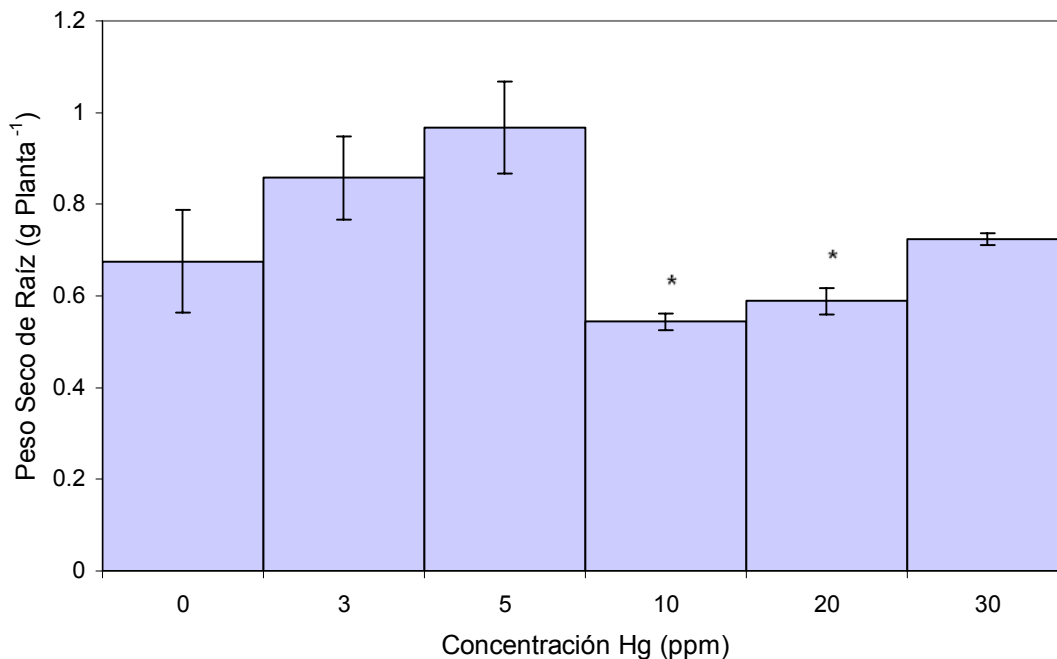
Gráfica 5. Efecto del Hg en la biomasa de hojas de plántulas de *S. rhyacophila*. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 4$).
* Diferente del control a $p < 0.05$.

El efecto del Hg en el crecimiento del tallo de las plántulas de *S. rhyacophila*, expresado en cantidad de biomasa, se muestra en la gráfica 6. La biomasa generada fue comparable a la del control a concentraciones bajas de Hg, mientras que una reducción significativa en el peso se manifestó al incrementar la concentración de Hg (10, 20 y 30 ppm HgCl₂). La exposición a Hg afectó el crecimiento de manera significativa ($F_{1,5} = 17.17$ $p < 0.0001$).



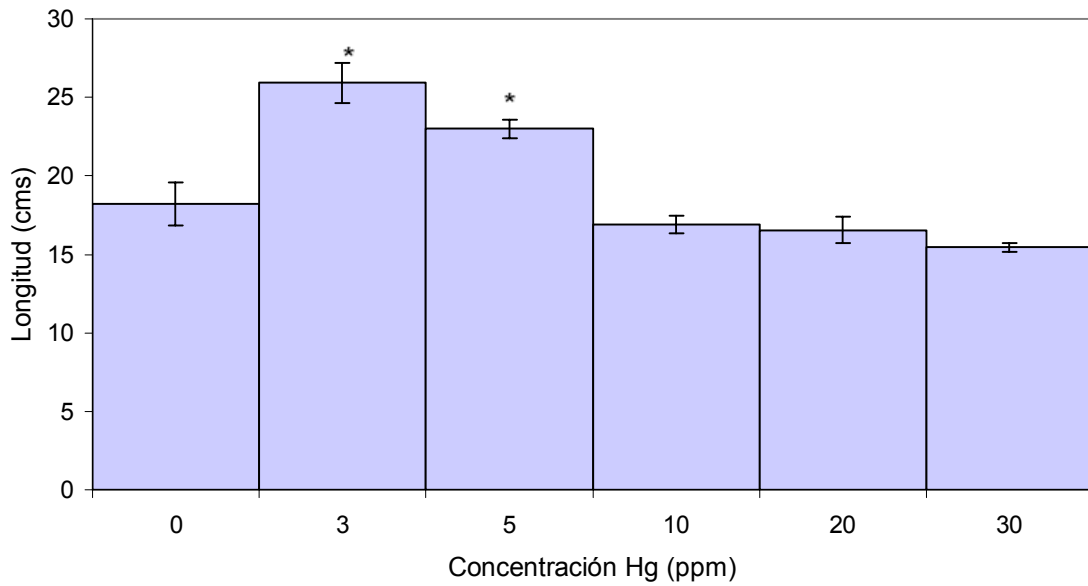
Gráfica 6. Efecto del Hg en la biomasa de tallos de plántulas de *S. rhyacophila*. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 4$).
* Diferente del control a $p < 0.05$.

Respecto al crecimiento de raíces, se encontró un efecto significativo de la concentración de Hg sobre la biomasa generada ($F_{1,5} = 4.84$ $p < 0.005$). En este caso, la cantidad de raíces generada por la exposición a la concentración más alta (30 ppm HgCl₂) fue comparable a aquella lograda por las plantas control (Gráfica 7). La prueba pos hoc de Tukey, mostró que el daño mayor fue causado a las concentraciones de 10 y 20 ppm.

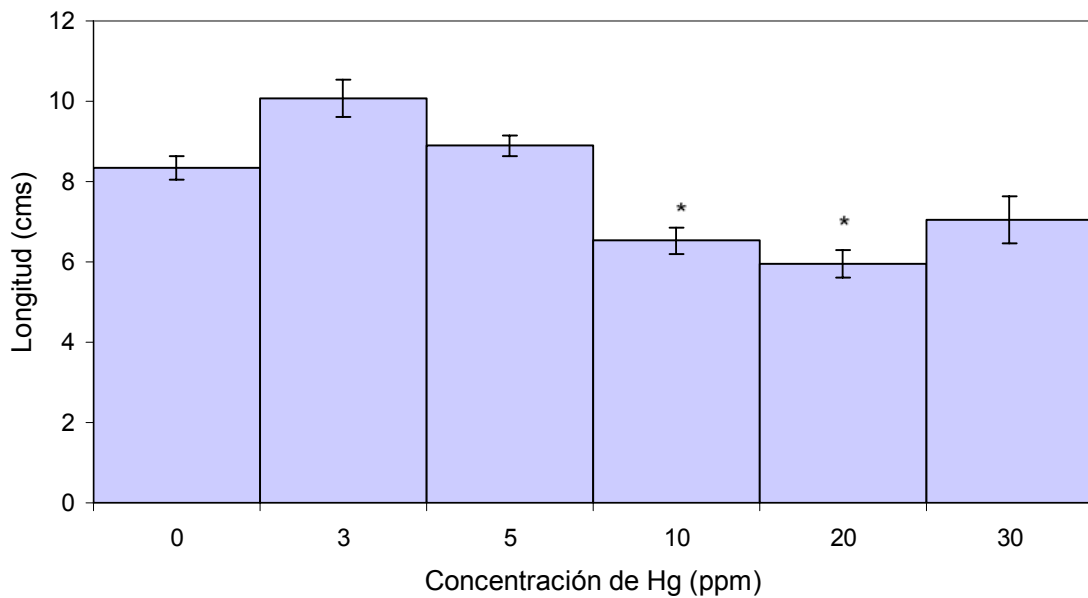


Gráfica 7. Efecto del Hg en la generación de biomasa de raíces de plántulas de *S. rhyacophila*. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 4$).
* Diferente del control a $p < 0.05$.

El efecto de la exposición a Hg también fue evaluado en términos de longitud lograda por parte del tallo y raíces de las plántulas de *S. rhyacophila*. En cuanto a las longitudes promedio del tallo, se encontró un efecto significativo de la concentración de Hg sobre las plántulas ($F_{1,5} = 20.68$ $p < 0.0001$). Las plántulas expuestas a las concentraciones más bajas (3 y 5 ppm HgCl_2), expresaron diferencias significativas respecto a las longitudes promedio de las plántulas control (Gráfica 8). La longitud promedio de las raíces también mostró un efecto significativo ante la exposición a Hg ($F_{1,5} = 16.14$ $p < 0.0001$), de manera notable sólo las plántulas expuestas a las concentraciones de 10 y 20 ppm mostraron diferencia respecto al control. La longitud promedio de las raíces de las plántulas expuestas a la concentración más alta (30 ppm HgCl_2), no mostró diferencias significativas respecto a las plántulas control (Gráfica 9).



Gráfica 8. Efecto de la exposición a HgCl_2 en la longitud del tallo de las plántulas de *S. rhyacophila*. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 4$).
* Diferente del control a $p < 0.05$.



Gráfica 9. Efecto de la exposición a HgCl_2 en la longitud de las raíces de plántulas de *S. rhyacophila*. Los valores representan la media \pm ES ($n = 4$).
* Diferente del control a $p < 0.05$

Discusión

Las características físico-químicas del Hg han convertido a este metal en un componente favorable para muchas aplicaciones industriales, como resultado, los residuos de estas actividades pueden introducir Hg al ambiente en diferentes formas. Dado el comportamiento único del Hg, la remediación de los sitios contaminados con este metal puede ser complicada y costosa. Las plantas tienen muchas propiedades naturales que las hacen candidatos ideales para la limpieza de sitios contaminados, suelos, agua y aire, a través de un proceso denominado fitorremediación. Las plantas a ser usadas en dicho proceso, deben caracterizarse por tolerar la presencia de metales tóxicos, en este caso al Hg. Esto es esencial para que las raíces puedan penetrar y extraer al contaminante de manera eficiente.

Algunos autores ya han observado la posibilidad de caracterizar sitios contaminados (en particular zonas mineras) con metales tóxicos, es decir, proponer estas zonas como fuentes de germoplasma para tecnologías aplicadas de fitorremediación (Bech et al., 2002; Higuera et al., 2003). En el caso particular de Hg, Moreno-Jiménez et al. (2006), reportaron los niveles de concentración de Hg total en plantas silvestres establecidas en una zona minera. En comparación con los resultados obtenidos por los autores (*Marrubium vulgare* con un máximo de 23 mg Hg kg⁻¹ en tallo y 67.2 mg Hg kg⁻¹ en raíces), existe un gran contraste, ya que la concentración máxima para una de las especies registradas en el presente estudio, es de 207.6 para la especie *Crotalaria pumila*. Dos especies más muestran datos de concentraciones aún elevadas: 81.8 mg Hg kg⁻¹ para la especie *Salvia rhyacophila* y 133.79 mg Hg kg⁻¹ para la especie *Bidens odorata*. Por otra parte, de manera general se obtuvieron valores bajos de concentración de Hg en las especies silvestres analizadas en los sitios correspondientes a Zacatecas (Tabla 4), aún cuando los suelos de estos sitios se caracterizan por tener valores que van de las 100 a las 800 ppm de Hg (Núñez, 2002; Ogura et al., 2003). Dentro de un mismo punto de muestreo, se mostraron diferencias de concentración de Hg

para las diferentes especies establecidas (Tabla 4), lo cual podría reflejar la variedad en cuanto a la capacidad de resistencia y bioacumulación de Hg en un suelo contaminado. De acuerdo con los datos mostrados en la tabla 4, existe una variación entre poblaciones de la misma especie establecidas en distintos suelos contaminados, ya que mientras una muestra de la especie *Bidens odorata*, en el punto Z2 mostró una media de 5.90 mg Hg kg⁻¹, otras dos muestras de la misma especie en los puntos H1 y H2 mostraron concentraciones de 22.27 y 133.79 mg Hg kg⁻¹ respectivamente. Debido a que la muestra bajo estudio no es representativa, los resultados no podrían generalizarse apuntando a una diferencia total entre poblaciones, sin embargo, los datos aportan indicios sobre la capacidad de estas plantas para poder incorporar y acumular mercurio en sus tejidos. Asimismo, tomando en cuenta que el número de plantas analizadas no es representativo para todo el sitio, sería sumamente recomendable incrementar el tamaño de muestra con la finalidad de contar con valores más representativos. El alto costo que representa realizar la cuantificación de Hg total, fue un elemento que impidió un mayor número de muestras bajo análisis en este trabajo. Por otro lado, se detectó una gran variación en la concentración de Hg total para individuos de la misma especie establecidas en un mismo sitio, ya que una de las plantas analizadas de *Bidens odorata* alcanzó una media en contenido de hasta 207 mg kg⁻¹, lo cual hizo que el error estándar para esa muestra fuera tan grande (Tabla 4). Una explicación a lo anterior, sería la existencia de diferencias en los genotipos para una especie establecida, o bien una heterogeneidad marcada en la distribución del Hg en un suelo contaminado. Como se esperaba, para zonas que han sido sitios de explotación primaria o secundaria de Hg, los suelos de las zonas de estudio presentan Hg disponible en mayor o menor cantidad.

La población que habita en sitios contaminados, con Hg en particular, es de gran interés y preocupación. Diferentes estudios han mostrado que los cultivos en suelos contaminados pueden incorporar metales tóxicos, esto representa un grave peligro para la salud pública. Asimismo, las partículas de polvo que se depositan sobre los cultivos, los cuales a su vez son consumidos por ganado, aumentan el

riesgo de los habitantes de estas zonas (Santos-Santos et al., 2006). Entre los cultivos que se desarrollan en las localidades bajo estudio correspondientes a Zacatecas, se encuentran el maíz y el frijol. Al respecto, existe un estudio realizado sobre la concentración de Hg en semillas de los dos cultivos para diferentes puntos, en los cuales la concentración no rebasa los 0.005 µg/g (Sánchez, 2005). Aunque a primera instancia parecería no haber problema mayor, se puede notar la necesidad de mayores estudios al respecto, ya que el análisis mencionado se enfoca a las semillas sin tomar en cuenta el resto de las plantas. En el presente trabajo, se pueden encontrar argumentos que podrían justificar dicha necesidad, se observa que las plantas silvestres pueden incorporar Hg en mayor o menor grado (tabla 4), las plantas cultivadas a su vez podrían estar incorporando una cantidad dada en sus estructuras, que al ser ingeridas por el ganado podrían dar paso a procesos de bioacumulación y biomagnificación. Los resultados son alarmantes para el caso de Huahuaxtla, en donde a pesar de no existir estudios anteriores relacionados con la vegetación cultivada, se puede sospechar de biodisponibilidad de Hg a partir de los resultados obtenidos para las especies silvestres.

Para poder evaluar la capacidad de resistencia al Hg, en las tres especies que mostraron los valores más altos en concentración del metal (*Salvia rhyacophila*, *Bidens odorata* y *Crotalaria pumila*), fue necesario conocer los requerimientos de germinación, ya que al ser especies silvestres, el conocimiento que se tiene sobre los mismos es mínimo. Para la especie *Bidens odorata* no existen reportes en la literatura sobre requerimientos de germinación. Taxonómicamente, algunos autores consideran a la especie *Bidens odorata* dentro del complejo de *Bidens pilosa* L. (Anexo 1). Forsyth y Brown (1982), reportaron resultados sobre pruebas de germinación para la especie *Bidens pilosa* L., por lo cual se tomó como referencia el reporte de estos autores. En dicho reporte, los autores encontraron que los aquenios largos de *Bidens pilosa* L., a diferencia de los cortos, germinaban ante una gran variedad de condiciones de incubación, por ello nuestro experimento fue realizado usando únicamente aquenios largos. Los

datos, gráfica 1, muestran la facilidad con que se logra un gran porcentaje final de germinación (100%), bajo condiciones de luz. Nuestros resultados concuerdan con aquellos reportados por Forsyth y Brown (1982) en cuanto al manejo de luz durante la incubación, no así en el porcentaje final logrado (80 %) con la ausencia de luz durante la incubación, ya que ellos reportan un porcentaje final del 100 %. En cuanto a la especie *Crotalaria pumila*, sólo se tiene conocimiento de un reporte sobre los requerimientos de germinación para las semillas de esta especie (Lindig-Cisneros y Lara-Cabrera, 2004). En dicho reporte, los autores muestran la necesidad de someter las semillas a un tratamiento de escarificación química, con la finalidad de eliminar la testa impermeable al agua y así desencadenar el proceso de germinación. Los resultados en este trabajo (gráfica 2) muestran un porcentaje final de germinación más alto (97 %), a un tiempo de inmersión en ácido sulfúrico de 60 min., que el reportado por estos autores (74 %). Las semillas de la especie *Salvia rhyacophila* se caracterizan por tener una cubierta con una sustancia mucilaginosa, ésta se expande de manera considerable hasta formar una masa gelatinosa al entrar en contacto con agua. Existen algunos reportes sobre requerimientos en la germinación para especies del género *Salvia*, no así para la especie en cuestión. Los primeros intentos realizados para conseguir la germinación de esta semilla en condiciones de laboratorio fueron fallidos. Karamanos (2000), recapitula algunas de las condiciones que pueden ser implementadas para poder desencadenar el proceso de germinación en algunas especies de *Salvia*. Entre dichas condiciones, se encuentra la ausencia o presencia de luz durante el periodo de incubación; además de la estimulación mediante un pretratamiento con un periodo de imbibición. Según lo mostrado en los resultados (gráfica 3), para esta especie existe un efecto positivo de la presencia de luz durante el periodo de incubación, así como el pretratamiento con agua durante un periodo de 24 horas; aún así el porcentaje final de germinación es bajo, lo cual indica la presencia de algún factor que podría estar provocando latencia en las semillas. En la misma recapitulación, Karamanos (2000) muestra condiciones óptimas de germinación entre los 25° y los 30°C, por lo cual se decidió realizar cambios en la temperatura inicial manejada de incubación (25 °C),

acoplado al pretratamiento por imbibición. Se pudo observar una mejora en el porcentaje de germinación al aumentar la temperatura (30 °C) acoplado a un periodo de incubación de 24 horas (gráfica 4). Aún cuando el porcentaje final de germinación obtenido mejoró (62%), se observó que el tiempo requerido para lograr la germinación de las semillas sigue siendo amplio.

Al conocer algunos requerimientos de germinación para las tres especies elegidas, estas se cultivaron bajo condiciones de invernadero. Mientras las especies *Salvia rhyacophila* y *Bidens odorata* fueron cultivadas exitosamente, el cultivo de la especie *Crotalaria pumila* no prosperó. Aproximadamente a las cuatro semanas de ser establecida, las plántulas presentaban síntomas de enfermedad, luego de varios intentos, las pruebas de resistencia y fitotoxicidad para esta especie fueron descartadas. Lo anterior es una muestra de los inconvenientes que se pueden encontrar al trabajar con especies silvestres.

El Hg es altamente fitotóxico, puede afectar la cadena de transporte de electrones en la fotosíntesis (Patra et al., 2004); el HgCl_2 también puede inhibir el flujo de agua mediante el bloqueo de canales transportadores de agua (Zhang y Tyerman, 1999). La toxicidad del Hg en las dos especies en que se logró un cultivo exitoso, fue evaluado en términos de crecimiento y, por lo tanto, en generación de biomasa, la cual fue afectada seriamente en concentraciones altas de Hg. En el caso particular de la especie *Bidens odorata*, los resultados no fueron positivos ya que ésta presentó daños severos aun ante la concentración mínima (3 mg L^{-1}). Para esta especie es probable que exista algún factor externo, el suelo mismo como un amortiguador, que permita una mayor tolerancia al Hg en condiciones de campo (Brown et al., 1999). Du et al., (2004) mostraron que el Hg (HgCl_2) inhibe el crecimiento de tallos y raíces en *Oriza sativa* L. a un 50% con una concentración de 0.5 mg L^{-1} . Esto difiere de los resultados obtenidos para *Salvia rhyacophila*, ya que su crecimiento no fue inhibido de manera significativa a una concentración semejante. El crecimiento y la generación de biomasa para *Salvia rhyacophila*, es comparable a los resultados obtenidos a bajas concentraciones en

plántulas de tomates (Cho y Park, 2000). Se pudo observar que a la concentración más alta de Hg, el peso seco de las raíces es similar al peso logrado por las raíces de las plántulas control, esto es comparable a los resultados obtenidos por Cargnelutti et al., (2006). Para las concentraciones de 10 y 20 mg L⁻¹ hubo una reducción en la biomasa generada de raíces, que se vio reflejado además en la biomasa generada por las hojas, la cual disminuyó con respecto al control a las mismas concentraciones. Esto puede ser explicado por el hecho de que un sistema de raíces dañado puede tener un impacto en el equilibrio de transporte de agua y nutrientes a órganos superiores (Godbold y Huttermann, 1986). Es importante notar que mientras el crecimiento en general de las plántulas sometidas a las concentraciones 10 y 20 mg L⁻¹ fue inhibido, el crecimiento de las plántulas sometidas a la concentración más alta fue comparable al de las plantas control. Caso contrario, el crecimiento de las plántulas sometidas a las concentraciones de 3 y 5 mg L⁻¹ fue, en general, mayor al de las plántulas control. Los resultados muestran que al aumentar la concentración de Hg, se inhibe el crecimiento de las plántulas. El incremento en la biomasa (hojas, tallo, raíces) de las plántulas sometidas a bajas concentraciones (3 y 5 mg L⁻¹) con respecto al control, puede ser a causa del efecto de compensación denominado "hormesis"¹. Este efecto de compensación se da en respuesta a la exposición de agentes tóxicos, teniendo como consecuencia la estimulación en las reacciones de defensa y un aumento en general en el metabolismo celular (Calabrese, 2004; Hadley, 2003). Diferentes autores han reportado efectos similares en especies vegetales sometidas a una disrupción en su homeostasis debido a exposición a diferentes inhibidores de crecimiento (Appleby, 1998; Barceló y Poschenrieder, 2002; Calabrese, 1999). Asimismo, se han encontrado respuestas similares en especies vegetales sometidas a un estrés por metales tóxicos, tales como el cadmio y el mismo mercurio (Rai et al., 1997; Subhadra et al., 1990).

¹ En un sistema biológico, la combinación de una respuesta estimuladora a dosis bajas de una sustancia tóxica, seguida de una inhibición por dosis altas de la misma, se denomina "hormesis", que deriva de la palabra griega 'hormo' que significa 'excitar'.

Los resultados preliminares de cuantificación, mostraron tres especies silvestres con valores altos de contenido de Hg total. Aún así, la resistencia en los experimentos hidropónicos no fue la esperada. Los resultados obtenidos no son suficientes para poder proponer a *Salvia rhyacophila* como una planta útil en la fitorremediación de suelos altamente contaminados con Hg, ya que no mostró una resistencia uniforme ante los diferentes tratamientos. Sin embargo, no puede ser descartada totalmente, por dos razones: la primera radica en el hecho de que a bajas concentraciones el crecimiento no es inhibido y en segundo lugar, el tratamiento de mayor concentración mostró un grado importante de resistencia ante la exposición al metal. Estudios posteriores podrían generar más información para evaluar la utilidad de la especie en la fitoestabilización de un suelo contaminado con Hg, ya que se ha observado que la biodisponibilidad del Hg en un suelo es en general baja (Wang y Greger, 2004) y podría no causar efectos tóxicos severos en esta especie.

Conclusiones

Este trabajo es importante, ya que contribuye a la descripción de especies tolerantes a metales tóxicos, en particular al Hg, en México. Nuestro país es un área con gran potencial para la presencia de especies tolerantes y/o acumuladoras de metales, no sólo por el gran número de zonas contaminadas sino por su variada y única diversidad vegetal; estas especies serían de gran utilidad en la biorremediación. Además, al encontrar especies silvestres mexicanas tolerantes, se eliminaría la necesidad de introducir plantas metalofitas exóticas para rehabilitar los sitios contaminados en nuestro país, protegiendo así la biodiversidad. Para los tres sitios bajo estudio se registraron 13 especies de plantas adaptadas a diferentes grados de contaminación por Hg.

Los resultados indican que los sitios bajo estudio están contaminados con Hg; además, este metal se encuentra disponible (en mayor o menor grado) en las fracciones de suelo y puede ser incorporado por la vegetación establecida. Se encontró una gran variación en cuanto a la cantidad de Hg total incorporada por cada especie. La concentración de Hg total más alta se encontró en la especie *Crotalaria pumila*. Las siguientes dos especies con concentraciones más altas registradas fueron *Bidens odorata* y *Salvia rhyacophila*. Según las concentraciones registradas, se asumió un potencial de uso para estas especies como acumuladoras de Hg. Acto seguido, se demostraron los requerimientos básicos para lograr la germinación y propagación de este tipo de especies silvestres. Aun cuando la germinación de las semillas se logró con éxito, el cultivo sólo prosperó para las especies *Bidens odorata* y *Salvia rhyacophila*. La propagación de

Crotalaria pumila no fue exitosa debido a problemas sistémicos, derivados probablemente desde la misma semilla, lo anterior muestra uno de los inconvenientes de trabajar con especies silvestres. Sólo *Salvia rhyacophila* mantuvo un crecimiento ante la exposición a Hg, sin embargo, las otras dos especies no pueden ser descartadas en su totalidad. Éstas fueron encontradas en campo y los resultados las mostraron con altas cantidades de Hg en sus tejidos. Sería de gran utilidad para este estudio determinar la cantidad de Hg total disponible en los puntos de muestreo (suelo en la rizósfera), esto podría dar mayores respuestas sobre la manera en que este tipo de especies pueden colonizar un sitio contaminado. De acuerdo a los resultados obtenidos, se propone mayor investigación con respecto a la tolerancia de la especie *Salvia rhyacophila* a la exposición a metales pesados en particular al Hg. La información obtenida en este trabajo, aún es insuficiente, sin embargo, muestra el potencial de nuestro país como fuente de germoplasma de plantas tolerantes a metales tóxicos, en particular al Hg. Y aun cuando no se lograron los resultados esperados, es importante seguir con la caracterización y descripción de las plantas que han podido establecerse sobre sitios contaminados.

Finalmente, con respecto a la vegetación silvestre en los sitios bajo estudio, existen riesgos para la fauna local y la salud humana, ya que una ingesta continua de estas plantas por la fauna del lugar (silvestre y domesticada) puede causar problemas a lo largo de la cadena alimenticia. Se debe poner atención particular para el sitio bajo estudio en la localidad de Huahuaxtla, Municipio de Taxco, donde se encontraron los valores más altos de Hg total (considerados como tóxicos), ya que estas plantas herbáceas son a menudo usadas como forrajeras.

Recomendaciones

La información recabada en este trabajo es insuficiente, sin embargo, muestra biodisponibilidad de Hg, argumento válido para considerar este tipo de sitios como potencialmente peligrosos y que necesitan ser restaurados de manera inmediata.

Es fundamental realizar estudios epidemiológicos más detallados con nichos de población que permitan conocer si existe alguna repercusión directa por la contaminación con Hg en la salud de los individuos, ya que los pocos estudios que se han realizado no generan información concluyente. Una evaluación a fondo de impacto en la salud, apoyada de una evaluación ecotoxicológica, mostrará elementos necesarios para poder valorar con mayor certeza las acciones correctivas que se requieran llevar a cabo en estas zonas. A su vez, es prioritario realizar un muestreo a fondo de las zonas involucradas para evaluar las rutas de difusión y las posibles transformaciones del mercurio en estos sitios.

Además, se debe alertar a la población sobre la peligrosidad de usar estos suelos contaminados en actividades de cultivo o como zonas para actividad de forrajeo en ganado, así como el riesgo latente de mantener viviendas cerca de este tipo de sitios, por ejemplo el caso de la localidad de Huahuaxtla. Estas zonas podrían, bajo mayores argumentos, ser declaradas como no apropiadas para uso habitacional.

Referencias

- Acosta y Asociados. 2001. Preliminary atmospheric emissions inventory of mercury in Mexico. Project CEC-01. Agua Prieta, Sonora. México.
- Acosta y Asociados. 2002. Inventario de sitios en México con niveles altos de Hg. Informe: "Taller sobre la situación del mercurio en la región "La Zacatecana". INE/SEMARNAT-ZACATECAS/CCA. Agua Prieta, Sonora. México.
- Appleby A.P. 1998. The practical implications of hormetic effects of herbicides on plants. *Human & Experimental Toxicology*. **17**, 270-271.
- Arthur E.L., Rice P.J., Rice P.J., Anderson T.A., Baladi S.M., Henderson K.L.D. y J.R. Coats. 2005. Phytoremediation – an overview. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **24**, 109-122.
- Baker A.J.M., McGrath S.P., Reeves R.D. y J. Smith. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. En: Terry N., Banuelos G.S. (Eds.) *Phytoremediation of contaminated soils and water*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Barceló J. y C. Poschenrieder. 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany*. **48**, 75-92.
- Bargagli R. 1998. *Trace Elements in Terrestrial Plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Nueva York. pp. 69-90.
- Barkay T., Miller S.M. y A.O. Summers. 2003. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*. **27**, 355-384.
- Bech J., Poschenrieder C., Barceló J. y A. Lansac. 2002. Plants from mine spoils in the South American area as potential sources of germplasm for phytoremediation technologies. *Acta Biotechnologica*. **22**, 5-11.
- Begley T.P., Walts A.E. y C.T. Walsh. 1986. Mechanistic studies of a protonolytic organomercurial cleaving enzyme – bacterial organomercurial lyase. *Biochemistry*. **25**, 7192-7200.
- Bennicelli R., Stepniewska Z., Banach A., Szajnocha K. y J. Ostrowski. 2004. The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg (II), Cr (III), Cr (VI)) from municipal waste water. *Chemosphere*. **55**, 141-146.

- Bizily S.P., Rugh C.L., Summers A.O. y R.B. Meagher. 1999. Phytoremediation of methylmercury pollution: *merB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **96**, 6808-6813.
- Bizily S.P., Rugh C.L. y R.B. Meagher. 2000. Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. Nature Biotechnology. **18**, 213-217.
- Bizily S.P., Kim T., Kandasamy M.K. y R.B. Meagher. 2003. Subcellular targeting of methylmercury lyase enhances its specific activity for organic mercury detoxification in plants. Plant Physiology. **131**, 463-471.
- Boening W. D. 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. Chemosphere. **40**, 1335-1351.
- Böhme F., Rinklebe J., Stark H.J., Wennrich R., Mothes S. y HU. Neue. 2005. A simple field method to determine mercury volatilization from soils. Environmental Science and Pollution Research. **12**, 133-135.
- Brown E.G., Foster L.A. y D.J. Ostergren. 1999. Mineral surfaces and bioavailability of heavy metals: A molecular-scale perspective. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **96**, 3388-3395.
- Calabrese E.J. 1999. Evidence that hormesis represents an "overcompensation" response to a disruption in homeostasis. Ecotoxicology and Environmental Safety. **42**, 135-137.
- Calabrese E.J. 2004. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. EMBO reports. **5**, S37-S40.
- Camargo J.A. 2002. Contribution of Spanish-American silver mines (1570-1820) to the present high mercury concentrations in the global environment: a review. Chemosphere. **48**, 51-57.
- Cargnelutti D., Tabaldi L.A., Spanevello R.M., Jucoski G.O., Battisti V., Redin M., Linares C.E.B., Dressler V.L., Flores E.M.M., Nicoloso F.T., Morsch V.M. y M.R.C. Schetinger. 2006. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. Chemosphere. **65**, 999-1006.
- Cavallini A., Natali L., Durante M. y B. Maserti. 1999. Mercury uptake, distribution and DNA affinity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) plants. The Science of the Total Environment. **243/244**, 119-127.

- Che D., Meagher R.B., Heaton A.C.P., Lima A., Rugh C.L. y S.A. Merkle. 2003. Expression of mercuric ion reductase in Eastern cottonwood (*Populus deltoides*) confers mercuric ion reduction and resistance. *Plant Biotechnology Journal*. **1**, 311-319.
- Chen H. y T. Cutright. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*. *Chemosphere*. **45**, 21-28.
- Cho UH. y JO. Park. 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science*. **156**, 1-9.
- Chunilall V., Kindness A. y S.B. Jonnalagadda. 2005. Heavy metal uptake by two edible *Amaranthus* herbs grown on soils contaminated with lead, mercury, cadmium, and nickel. *Journal of Environmental Science and Health*. **40**, 375-384.
- Colleran E. 1997. Uses of bacteria in bioremediation. En: Sheehan D. (Ed.) *Bioremediation Protocols*. Humana Press. Nueva Jersey. pp. 3-22.
- Conesa H. M., Faz A. y R. Arnaldos. 2007. Initial studies for the phytostabilization of a mine tailing from the Cartagena-La Unión mining district (SE Spain). *Chemosphere*. **66**, 38-44.
- Connell D.W., Hawker D.W., Warne M.S.J. y P.P. Vowles. 1997. Basic concepts of environmental chemistry. CRC Press LLC. Boca Ratón. pp. 257-262.
- Contreras D.F.J., Ortiz R.J.R. y J.M. Padilla. 2002. Panorama general de la población de la localidad de La Zacatecana. En: Plan de acción de la presa La Zacatecana para la contención de metales pesados. INE/SEMARNAT-ZACATECAS/CNA/UAZ/IMSS/ISSSTE/PROFEPA. Municipio de Guadalupe, Zacatecas.
- Cox P.A., Banack S.A. y S.J. Murch. 2003. Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **100**, 13380-13383.
- Du X., Zhu Y.G., Liu W.J. y X.S. Zhao. 2004. Uptake of mercury (Hg) by seedlings of rice (*Oriza sativa* L.) grown in solution culture and interactions with arsenate uptake. *Environmental and Experimental Botany*. **54**, 1-7.
- EPA, US Environmental Protection Agency. 1994. Summary Review of Health Effects Associated with Mercuric Chloride: Health Issue Assessment. EPA/600/R-92-199. Office of Health and Environmental Assessment. Washington, DC.

- Ericksen J.A. y M.S. Gustin. 2004. Foliar exchange of mercury as a function of soil and air mercury concentrations. *The Science of the Total Environment*. **324**, 271-279.
- Evans L.D. 2002. The dirt on phytoremediation. *Journal of Soil and Water Conservation*. **57**, 12-15A.
- Forlano L., Hedgecock I.M. y N. Pirrone. 2000. Elemental gas phase atmospheric mercury as it interacts with the ambient aerosol and its subsequent speciation and deposition. *The Science of the Total Environment*. **259**, 211-222.
- Forsyth C. y N.A.C. Brown. 1982. Germination of the dimorphic fruits of *Bidens pilosa* L. *New Phytologist*. **90**, 151-164.
- Galeotti E.R. 2006. La minería de mercurio en México. *Boletín de Mineralogía*. **17**, 29-36.
- Garbisu C. y I. Alkorta. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*. **77**, 229-236.
- Godbold D.L. y A. Huttermann. 1986. The uptake and toxicity of mercury and lead to spruce seedlings. *Water, Air and Soil Pollution*. **31**, 509-515.
- González P.S., Capozucca C.E., Tigier H.A., Milrad S.R. y E. Agostini. 2006. Phytoremediation of phenol from wastewater, by peroxidases of tomato hairy root cultures. *Enzyme and Microbial Technology*. **39**, 647-653.
- Greger M., Wang Y. y C. Neuschütz. 2005. Absence of Hg transpiration by shoot after Hg uptake by roots of six terrestrial plant species. *Environmental Pollution*. **134**, 201-208.
- Hadley C. 2003. What doesn't kill you makes you stronger. *EMBO reports*. **4**, 924-926.
- Haldimann P. y M. Tsimilli-Michael. 2002. Mercury inhibits the non-photochemical reduction of plastoquinone by exogenous NADPH and NADH: evidence from measurements of the polyphasic chlorophyll *a* fluorescence rise in spinach chloroplasts. *Photosynthesis Research*. **74**, 37-50.
- He Y.K., Sun J.G., Feng X.Z., Czako M. y L. Márton. 2001. Differential mercury volatilization by tobacco organs expressing a modified bacterial *merA* gene. *Cell Research*. **11**, 231-236.
- Heaton A.C.P., Rugh C.L., Wang NJ. y R.B. Meagher. 2005. Physiological responses of transgenic *merA*-tobacco (*Nicotiana tabacum*) to foliar and root mercury exposure. *Water, Air and Soil Pollution*. **161**, 137-155.

- Higuera P., Oyarzun R., Biester H., Lillo J. y S. Lorenzo. 2003. A first insight into mercury distribution and speciation in soils from the Almadén mining district, Spain. *Journal of Geochemical Exploration*. **80**, 95-104.
- Hirata K., Tsuji N. y K. Miyamoto. 2005. Biosynthetic regulation of phytochelatin, heavy metal-binding peptides. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **100**, 593-599.
- Horvat M. 2002. Mercury as a global pollutant. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **374**, 981-982.
- Horvat M., Nolde N., Fajon V., Jereb V., Logar M., Lojen S., Jacimovic R., Falnoga I., Liya Q., Faganeli J. y D. Drobne. 2003. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China. *The Science of the Total Environment*. **304**, 231-256.
- Hylander L.D. y M. Meili. 2003. 500 years of mercury production: global annual inventory by region until 2000 and associated emissions. *The Science of the Total Environment*. **304**, 13-27.
- Hylander L.D. y M. Meili. 2005. The rise and fall of mercury: converting a resource to refuse after 500 years of mining and pollution. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. **35**, 1-36.
- Iskander F.Y., Vega-Carrillo H.R. y E.A. Manzanares. 1994. Determination of mercury and other elements in La Zacatecana Dam sediment in Mexico. *The Science of the Total Environment*. **148**, 45-48.
- Jedrzejczak R. 2002. Determination of total mercury in foods of plant origin in Poland by cold vapour atomic absorption spectrometry. *Food Additives and Contaminants*. **19**, 996-1002.
- Karamanos A.J. 2000. Cultivation and breeding. *The cultivation of Sage*. En: Kintzios S.E. (Ed.). Sage. *The Genus Salvia*. Harwood Academic Publishers. Singapur. pp. 93-129.
- Keeler G., Glinsorn G. y N. Pirrone. 1995. Particulate mercury in the atmosphere: its significance, transport, transformation and sources. *Water, Air and Soil Pollution*. **80**, 159-168.
- Khan A.G., Kuek C., Chaudhry T.M., Khoo C.S. y W.J. Hayes. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*. **41**, 197-207.
- Kim M. 2004. Mercury, cadmium and arsenic contents of calcium dietary supplements. *Food Additives and Contaminants*. **21**, 763-767.

- Kramer U., Smith R.D., Wenzel W.W., Raskin I. y D.E. Salt. 1997. The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thelapsi geosingense* Halacsy. *Plant Physiology*. **115**, 1641-1650.
- Krämer U. 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current Opinion in Biotechnology*. **16**, 133-141.
- Le Duc D.L. y N. Terry. 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **32**, 514-520.
- Leermakers M., Baeyens W., Quevauviller P. y M. Horvat. 2005. Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation. *Trends in Analytical Chemistry*. **24**, 383-393.
- Lin C.J. y S.O. Pehkonen. 1999. The chemistry of atmospheric mercury: a review. *Atmospheric Environment*. **33**, 2067-2079.
- Lindig-Cisneros R. y S. Lara-Cabrera. 2004. Effect of scarification and growing media on seed germination of *Crotalaria pumila* (Ort.). *Seed Science & Technology*. **32**, 231-234.
- Linacre N.A., Whiting S.N. y J.S. Angle. 2005. The impact of uncertainty on phytoremediation project costs. *International Journal of Phytoremediation*. **7**, 259-269.
- Lodenius M., Tulisalo E. y A. Soltanpour-Gargari. 2003. Exchange of mercury between atmosphere and vegetation under contaminated conditions. *The Science of the Total Environment*. **304**, 169-174.
- Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J. y S.P. McGrath. 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*. **30**, 1919-1926.
- Maggio A. y R.J. Joly. 1995. Effects of mercuric chloride on the hydraulic conductivity of tomato root systems. *Plant Physiology*. **109**, 331-335.
- Manzanares A.E., Vega C. H.R., Escobar L. M.C., Letechipía de L. C., Guzmán E. L.J., Hernández D. V.M. y M.A. L. Salas. 2005. Evaluación de riesgos ambientales por plomo en la población de Vetagrande, Zacatecas. UAZ. Unidad Académica de Estudios Nucleares. Zacatecas, Zacatecas.
- Mason R.P., Fitzgerald W.F. y F.M.M. Morel. 1994. The biogeochemical cycling of elemental mercury: Anthropogenic influences. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. **58**, 3191-3198.

- Matthiessen A. 1998. Reduction of divalent mercury by humic substances – kinetic and quantitative aspects. *The Science of the Total Environment*. **213**, 177-183.
- Meagher R.B. y A.C.P. Heaton. 2005. Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **32**, 502-513.
- Meili M., Bishop K., Bringmark L., Johansson K., Munthe J., Sverdrup H. y W. Vries. 2003. Critical levels of atmospheric pollution: criteria and concepts for operational modelling of mercury in forest and lake ecosystems. *The Science of the Total Environment*. **304**, 83-106.
- Mejára M. y L. Bülow. 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *TRENDS in Biotechnology*. **19**, 67-73.
- Morel F.M.M., Kraepiel A.M.L. y M. Amyot. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **29**, 543-566.
- Moreno F.N., Anderson C.W.N., Stewart R.B. y B.H. Robinson. 2005. Mercury volatilisation and phytoextraction from base-metal mine tailings. *Environmental Pollution*. **136**, 341-352.
- Moreno-Jiménez E., Gamarra R., Carpena-Ruiz R.O., Millán R., Peñalosa J.M. y E. Esteban. 2006. Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere*. **63**, 1969-1973.
- Nedelkoska T.V. y P.M. Doran. 2000. Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnology and Bioengineering*. **67**, 607-615.
- Nriagu J.O. 1993. Legacy of mercury pollution. *Nature*. **363**, 589.
- Nriagu J.O. 1994. Mercury pollution from the past mining of gold and silver in the Americas. *The Science of the Total Environment*. **149**, 167-181.
- Núñez M.J.E. 2002. Metales Pesados en La Zacatecana. En: Plan de acción de la presa La Zacatecana para la contención de metales pesados. INE/SEMARNAT-ZACATECAS/CNA/UAZ/IMSS/ISSSTE/PROFEPA. Municipio de Guadalupe, Zacatecas.
- Ogura T., Ramírez-Ortiz J., Arroyo-Villaseñor Z.M., Hernández S.M., Palafox-Hernández J.P., García De Alba L.H. y F. Quintus. 2003. Zacatecas (México) companies extract Hg from surface soil contaminated by ancient mining industries. *Water, Air and Soil Pollution*. **148**, 167-177.

- Pacyna E.G., Pacyna J.M., Steenhuisen F. y S. Wilson. 2006. Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. *Atmospheric Environment*. **40**, 4048-4063.
- Pyle D.M. y T.A. Mather. 2003. The importance of volcanic emissions for the global atmospheric mercury cycle. *Atmospheric Environment*. **37**, 5115-5124.
- Patra M. y A. Sharma. 2000. Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review*. **66**, 379-442.
- Patra M., Bhowmik N., Bandopadhyay B. y A. Sharma. 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.
- Petäten T. y M. Romantschuk. 2003. Toxicity and bioavailability to bacteria of particle-associated arsenite and mercury. *Chemosphere*. **50**, 409-413.
- Pulford I.D. y C. Watson. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environment International*. **29**, 529-540.
- Rai U.N., Gupta M., Tripathi R.D. y P. Chandra. 1997. Cadmium regulated nitrate reductase activity in *Hydrilla verticillata* (1.F.) Royle. *Water, Air, and Soil Pollution*. **106**, 171-177.
- Rajesh K.M., Jose M.V., Ramana K., Rizwana A., Thomas C.H. y M. Priti. 1996. Optical spectroscopic and reverse-phase HPLC analyses of Hg (II) binding to phytochelatins. *Biochemical Journal*. **314**, 73-82.
- Ramamoorthy T.P. y M. Elliot. 1998. Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. En: T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (comps.) *Diversidad biológica de México. Orígenes y distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F. pp. 501-526.
- Raskin, I., Smith R.D. y D.E. Salt. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*. **8**, 221-226.
- Rellán-Álvarez R., Ortega-Villasante C., Álvarez-Fernández A., Del Campo F.F. y L.E. Hernández. 2006. Stress responses of *Zea mays* to cadmium and mercury. *Plant and Soil*. **279**, 41-50.
- Rémy S., Prudent P., Hissler C., Probst J.L. y G. Krempp. 2003. Total mercury concentrations in an industrialized catchment, the Thur River basin (north-eastern France): geochemical background level and contamination factors. *Chemosphere*. **52**, 635-644.

- Renneberg A.J. y M.J. Dudas. 2001. Transformations of elemental mercury to inorganic and organic forms in mercury and hydrocarbon co-contaminated soils. *Chemosphere*. **45**, 1103-1109.
- Römken P., Bouwman L., Japenga J. y C. Draaisma. 2002. Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environmental Pollution*. **116**, 109-121.
- Rossini S.O. y B. Valdés. 2004. Influence of washing on metal concentrations in leaf tissue. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. **35**, 1543-1552.
- Rugh C.L., Wilde H.D., Stack N.M., Thompson D.M., Summers A.O. y R.B. Meagher. 1996. Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **93**, 3182-3187.
- Rugh C.L., Senecoff J.F., Meagher R.B. y S.A. Merkle. 1998. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. *Nature Biotechnology*. **16**, 925-928.
- Rugh C.L. 2004. Genetically engineered phytoremediation: one man's trash is another man's transgene. *TRENDS in Biotechnology*. **22**, 496-498.
- Rzedowski, G. C. de, y J. Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán.
- Sánchez G. M.A. 2005. Estudio de la contaminación por metales pesados en el municipio de Guadalupe, Zacatecas. Tesis de Licenciatura en Biología. UNAM. pp. 74.
- Salt D.E. 1998. Arboreal alchemy. *Nature Biotechnology*. **16**, 905.
- Sánchez S. O. 1976. La flora del Valle de México. Editorial Herrero, México. p. 519.
- Sánchez U. J.E. y A. Sanz-Medel. 1998. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples. *Talanta*. **47**, 509-524.
- Santos-Santos E., Yarto-Ramírez M., Gavilán-García I., Castro-Díaz J., Gavilán-García A., Rosiles R., Suárez S. y T. López-Villegas. 2006. Analysis of arsenic, lead and mercury in farming areas with mining contaminated soils at Zacatecas, Mexico. *J. Mex. Chem. Soc.* **50**, 57-63.

- Schlüter K. 2000. Review: evaporation of mercury from soils. An integration and synthesis of current knowledge. *Environmental Geology*. **39**, 249-271.
- Schwesig D. y O. Krebs. 2003. The role of ground vegetation in the uptake of mercury and methylmercury in a forest ecosystem. *Plant and Soil*. **253**, 445-455.
- Seigneur C., Karamchandani P., Vijayaraghavan K., Lohman K., Shia R. y L. Levin. 2003. On the effect of spatial resolution on atmospheric mercury modeling. *The Science of the Total Environment*. **304**, 73-81.
- Shanker K., Mishra S., Srivastava S., Srivastava R., Daas S., Prakash S. y M.M. Srivastava. 1996. Effect of selenite and selenate on plant uptake and translocation of mercury by tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Plant and Soil*. **183**, 233-238.
- Subhadra A.V., Nanda A.K., Behera P.K., y B.B. Panda. 1990. Acceleration of catalase and peroxidase activities in *Lemna minor* L. and *Allium cepa* L. in response to low levels of aquatic mercury. *Environmental Pollution*. **69**, 169-179.
- Subhadra A.V., Panda K.K. y B.B. Panda. 1993. Residual mercury in seed of Barley of methanesulfate, maleic hydrazide, methyl mercury chloride and mercury-contaminated soil. *Mutation Research*. **300**, 141-149.
- Suresh B. y G.A. Ravishankar. 2004. Phytoremediation - a novel and promising approach for environmental clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology*. **24**, 97-124.
- Susarla S., Medina V.F. y S.C. McCutcheon. 2002. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*. **18**, 647-658.
- Ulrich S.M., Tanton T.W. y S.A. Abdrashitova. 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. **31**, 241-293.
- US-HHS, US Department of Health and Human Services. 1992. Toxicological Profile for Mercury (Draft). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Atlanta, GA: US Public Health Service.
- Wang D., Shi X. y S. Wei. 2003. Accumulation and transformation of atmospheric mercury and soil. *The Science of the Total Environment*. **304**, 209-214.
- Wang S. y C.M. Wai. 1996. Supercritical fluid extraction of bioaccumulated mercury from aquatic plants. *Environmental Science and Technology*. **30**, 3111-3114.

- Wang Y. y M. Greger. 2004. Clonal differences in mercury tolerance, accumulation and distribution in willow. *Journal of Environmental Quality*. **33**, 1779-1785.
- Watanabe M.E. 2001. Can bioremediation bounce back?. *Nature Biotechnology*. **19**, 1111-1115.
- Williams E.L., Pittman K.J. y L.J. Hall. 2000. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1465**, 104-126.
- Wiener J.G., Krabbenhoft D.P., Heinz G.H. y A.M. Scheuhammer. 2003. Ecotoxicology of Mercury. En: Hoffman D.J., Rattner B.A., Burton G.A. Jr., Cairns J. Jr. (Eds.) *Handbook of Ecotoxicology*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 409-443.
- Wong M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. **50**, 775-780.
- Xiao Z.F., Stromberg D. y O. Lindqvist. 1995. Influence of humic substances on photolysis of divalent mercury in aqueous-solution. *Water, Air and Soil Pollution*. **80**, 789-798.
- Yang H., Nairn J. y P. Ozias-Akins. 2003. Transformation of peanut using a modified bacterial mercuric ion reductase gene driven by an actin promoter from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*. **160**, 945-952.
- Zhou ZY., Fan YP. y MJ. Wang. 2000. Heavy metal contamination in vegetables and their control in china. *Food Reviews International*. **16**, 239-255.
- Zhang WH. y S.D. Tyerman. 1999. Inhibition of water channels by HgCl₂ in intact wheat root cells. *Plant Physiology*. **120**, 849-857.

Referencias Electrónicas

CEC. 2003. http://www.cec.org/files/PDF/POLLUTANTS/hotspots_en.pdf

INEGI. 2000. http://www.inegi.gob.mx/lib/olap/general_ver3/MDXQueryDatos.asp

Anexo 1

“Descripción taxonómica de las especies usadas en pruebas de resistencia a Hg. “

Bidens odorata Cav. (*B. Pilosa* L. Sensus Sherff, en parte).

Planta anual, erecta, hasta de 1.5 m de alto, aunque por lo general de menos de 1 m; tallo cuadrangular, ramificado, casi glabro o algo piloso; hojas sobre peciolo hasta de 10 cm de largo, limbo hasta de 15 cm de largo y 11 cm de ancho, partido en 3 ó 5 foliolos simples, ovados o lanceolados y aserrados, o bien, éstos a su vez profundamente partidos, casi glabros a pilosos; cabezuelas agrupadas por varias en las porciones terminales de las ramas; involucre anchamente campanulado a subhemisférico, sus brácteas exteriores 6 a 10, lineares a linear-espátuladas, de 3 a 5 mm de largo, verdes, ciliadas, las interiores 6-8, lanceoladas a oblongas, de 3 a 6 mm de largo, cafés pero con los márgenes hialinos; receptáculo plano, páleas lineares; flores liguladas 5, sus corolas blancas a moradas, rara vez amarillas, obovadas o elípticas, de 8 a 18 mm de largo; flores del disco 25 a 30, sus corolas amarillas, de 3 a 6 mm de largo, glabras o algo pubescentes en el tubo, anteras oscuras; aquenios de 5 a 14 mm de longitud, los interiores lineares y más largos, los exteriores más o menos obcomprimidos y más cortos, negruzcos o cafés, vilano por lo común de 2 aristas retrorsamente barbadas, de 1 a 3 mm de largo, o a veces ausente. “Acahual”, “acahual blanco”, “cisiquelite”, “rosetilla”, “té de milpa blanco”. Esta planta corresponde al complejo de *B. Pilosa* L., pero de acuerdo con Melchert (op. cit.) y Ballard (op. cit.), amerita reconocerse como especie independiente.

Crotalaria pumila Ort.

Planta anual, erguida, de 30 a 50 cm de altura; tallo ramificado, algo estrigoso, a simple vista aparece glabro; estípulas diminutas o ausentes, hojas trifoliadas, el peciolo delgado, generalmente de la mitad del largo del foliolo terminal, foliolos obovados u obovado-oblongos, delgados, de 1 a 2 cm de largo por 2 a 8 mm de ancho, ápice redondeado, borde entero, base cuneada, haz glabro, envés estrigoso; flores dispuestas en racimos, éstos de pocas flores que miden 1 cm de largo, pedicelos cortos; cáliz estrigoso, con los lóbulos más largos que el tubo; corola amarilla, con el estandarte listado de rojo; legumbre inflada, oblonga, de 15 mm de largo por 8 mm de diámetro, con el ápice redondeado y mucronado, glabra o estrigosa; semillas de 3 mm de largo por 2 mm de ancho, de color café-amarillento. “Tronadora”.

Salvia rhyacophila Epling.

Hierba anual de 40-70 cm, tallos vellosos; lámina de la hoja ampliamente ovada, 5-7 cm de largo, ápice brevemente acuminado, margen crenado-serrado, base redonda, haz y envés hirsutos; peciolo veloso, 2-5 cm de largo, flores 3-6, en verticilastros, brácteas 5-10 mm, ovado-caudadas, vellosas, deciduas tardíamente; distancia entre glomérulos de 0.5-2 cm, pedúnculo veloso; cáliz en anthesis 5.5 mm de largo, cara exterior vellosa, dientes del labio inferior 1.5-2 mm de largo; tubo de la corola 3.5-4 mm de largo, labio superior 2.5 mm.