

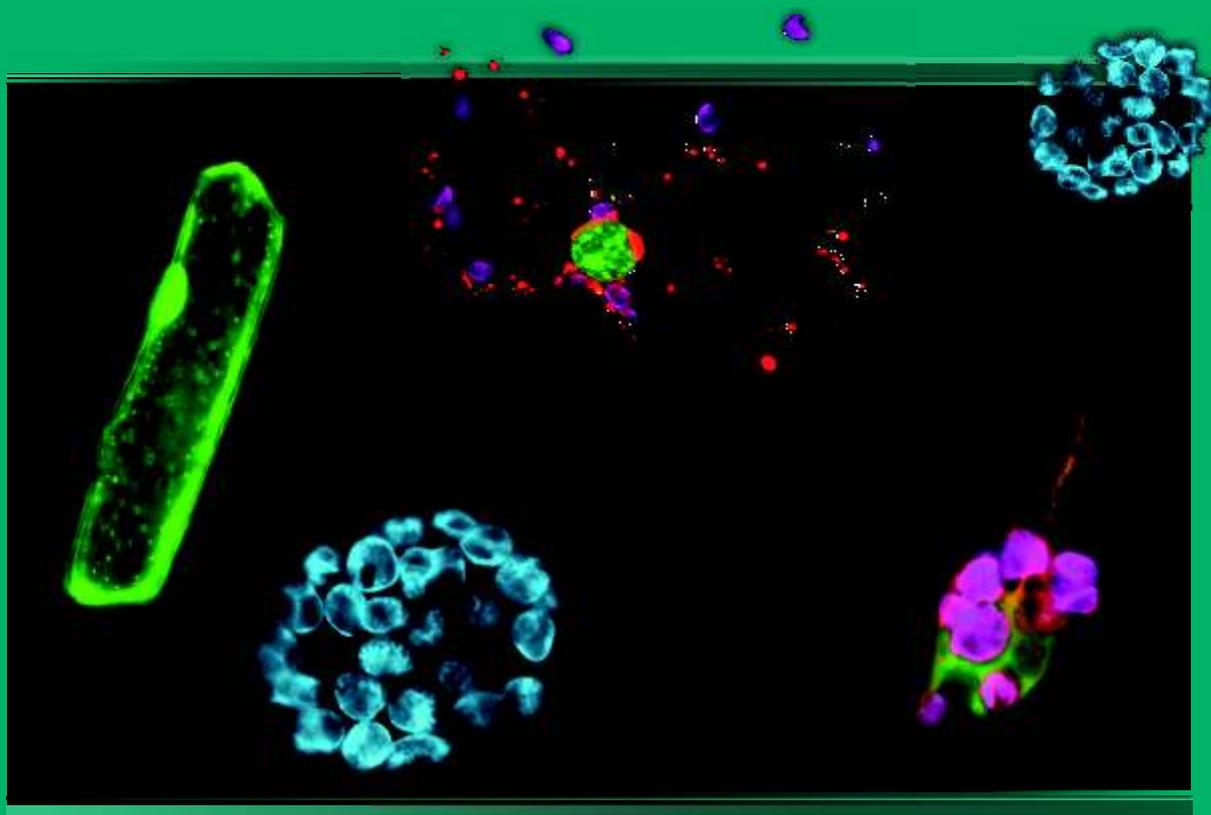
# Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II

Editores:

Gabriela Levitus, Viviana Echenique,  
Clara Rubinstein, Esteban Hopp y Luis Mroginski

ArgenBio 

Consejo Argentino para la Información  
y el Desarrollo de la Biotecnología



## ■ Ediciones

Instituto Nacional de  
Tecnología Agropecuaria



## V. CAPÍTULO 15

### Fitorremediación

María Eugenia Segretin\*, Paula Bey\* y  
Alejandro Mentaberry

\* Ambas autoras contribuyeron por igual

#### Introducción

La autotrofia es una de las características más importante de las plantas, dado que les permite utilizar la energía solar y el CO<sub>2</sub> como fuentes de energía y carbono, respectivamente. Como consecuencia, las mismas dependen de sus raíces para incorporar agua del medio que las rodea y, con ella, compuestos minerales, nitrógeno y otros nutrientes. Junto con éstos, las plantas absorben compuestos tóxicos de origen variado por lo que, a lo largo de la evolución, han generado mecanismos de detoxificación que les permiten sobrevivir en ambientes adversos. Estos mecanismos pudieron haberse originado a partir de sistemas naturales de defensa contra aleloquímicos liberados por organismos competidores, incluyendo microorganismos, insectos y otras plantas.

La “fitorremediación” consiste en la utilización de las plantas y de los microorganismos asociados a las mismas con fines de descontaminación del medio ambiente. En este contexto, las plantas pueden considerarse como sistemas naturales de extracción y tratamiento de contaminantes. A diferencia de los métodos de tratamiento tradicionales, la energía requerida para su funcionamiento proviene del sol, el costo de mantenimiento es reducido y los efectos indeseados son mínimos.

Muchas actividades humanas, como la minería, la agricultura, la industria y las operaciones militares, han provocado la contaminación de grandes superficies, incluyendo sitios con altos niveles de concentración de compuestos tóxicos (por ejemplo luego de un derrame accidental) o con niveles escasamente detectables. Luego de largos períodos de exposición, estos últimos pueden ser perjudiciales para la salud humana y de otros organismos debido a efectos acumulativos. Los procedimientos actualmente utilizados para el tratar sitios conta-

minados son muy caros y, como consecuencia de ello, muchos terrenos privados se abandonan en lugar de remediarse. Solamente en Estados Unidos, se gastan entre 6.000 y 8.000 millones de dólares anuales para el tratamiento de zonas contaminadas, valores que, a escala mundial, alcanzan sumas de 25.000 y 50.000 millones de dólares.

Los métodos actualmente utilizados para la remediación ambiental se pueden clasificar en fisicoquímicos y biológicos. Los métodos fisicoquímicos incluyen la excavación, transporte y lavado de suelos, la extracción, bombeo y tratamiento de aguas contaminadas y el tratamiento de aguas contaminadas mediante precipitación, intercambio iónico, ósmosis reversa y microfiltración. Todos estos procedimientos son altamente costosos e impracticables si se trata de grandes superficies de tierra o volúmenes de agua.

Los métodos biológicos más utilizados se basan en agregar o estimular el crecimiento de bacterias que degraden o transformen el contaminante a tratar. Para que este enfoque resulte exitoso, se deben considerar factores tales como la capacidad de supervivencia de los microorganismos, la accesibilidad o biodisponibilidad del compuesto contaminante y la presencia de inductores de las respectivas actividades enzimáticas. Muchos compuestos orgánicos son recalcitrantes a la degradación y no pueden ser utilizados como fuente de carbono por los microorganismos involucrados. Además, los contaminantes son generalmente metabolizados por enzimas que utilizan otro sustrato natural, por lo que la presencia de éste puede ser necesaria para inducir la expresión de los genes correspondientes. Por otra parte, el éxito de un proceso de biorremediación depende de la presencia de fuentes de carbono y energía suficientes en el sitio a tratar, por lo que usualmente se requiere adicionar considerables cantidades de nutrientes para promover el crecimiento bacteriano.

#### **La fitorremediación: aplicaciones, ventajas y desventajas**

La fitorremediación es una técnica de reciente desarrollo que permite descontaminar de manera eficiente compuestos tóxicos orgáni-

cos e inorgánicos. La mayoría de los contaminantes orgánicos son generados por la acción del hombre, siendo muchos de ellos carcinogénicos. Se producen como consecuencia de derrames (combustibles y solventes) y actividades agrícolas (pesticidas, herbicidas), industriales (deshechos químicos y petroquímicos) o militares (explosivos y armas químicas). Dependiendo de sus propiedades, pueden ser degradados en la raíz de la planta, o incorporados a tallos y hojas para su degradación, secuestro o volatilización. Algunos ejemplos de compuestos orgánicos eficientemente descontaminados por fitorremediación incluyen solventes orgánicos (tricloroetileno), herbicidas (atrazina), explosivos (trinitrotolueno), hidrocarburos derivados del petróleo (gasolina, benceno, tolueno, hidrocarburos aromáticos policíclicos) y bifenilos policlorinados (dioxinas, polietileno), entre otros. En comparación con los contaminantes inorgánicos, son relativamente menos tóxicos para las plantas, ya que son menos reactivos y no se acumulan.

Los contaminantes inorgánicos pueden estar presentes naturalmente en la corteza terrestre y/o en la atmósfera, o resultar de actividades humanas como la minería, la industria, el transporte y la agricultura. A diferencia de los compuestos orgánicos, no pueden ser degradados por las plantas, pero pueden acumularse en las partes cosechables de las mismas. Algunos ejemplos exitosos de fitorremediación de esta clase de contaminantes incluyen, entre otros, macronutrientes vegetales (nitratos y fosfatos), elementos traza (Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn), elementos no esenciales (Cd, Co, F, Hg, Se, Pb, V y W), e isótopos radioactivos ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  y  $^{90}\text{Sr}$ ). Muchos de estos compuestos son normalmente necesarios para el desarrollo de las plantas, pero cuando se acumulan en exceso generan estrés oxidativo dañando a las células vegetales.

Más allá de la naturaleza química del contaminante, la fitorremediación puede utilizarse para detoxificar sustratos de naturaleza sólida, líquida o gaseosa. Entre las principales aplicaciones de esta técnica pueden mencionarse el tratamiento de:

- *Sustratos sólidos*: sitios militares (metales, explosivos), suelos agrícolas (herbi-

cidas, pesticidas, metales, selenio), sitios industriales (compuestos orgánicos, metales), minas (metales) y sitios de tratamiento de maderas (hidrocarburos aromáticos policíclicos);

- *Sustratos líquidos*: aguas residuales (nutrientes, metales), drenajes agrícolas (nutrientes, fertilizantes, As, Se, B, pesticidas, herbicidas), efluentes industriales (metales), efluentes de minería (metales);
- *Sustratos gaseosos*: aire (óxidos de nitrógeno,  $\text{SO}_2$ , ozono,  $\text{CO}_2$ , gases neurotóxicos, partículas de hollín, hidrocarburos volátiles).

La fitorremediación presenta una serie de ventajas sobre otras técnicas de descontaminación que podrían resumirse de la siguiente manera: a) costos energéticos muy inferiores debido al uso de energía solar; b) empleo de tratamientos *in situ*, con las consiguientes reducciones de costos y riesgos para los humanos; c) adaptabilidad para la descontaminación de grandes superficies o para la "finalización" de áreas restringidas en plazos prolongados; d) mayor velocidad de degradación para el caso de determinados compuestos; e) menor producción de residuos secundarios.

Asimismo, es importante considerar también las limitaciones inherentes a esta técnica, entre las cuales pueden incluirse: a) la fitotoxicidad puede limitar el crecimiento de las plantas en áreas fuertemente contaminadas; b) la penetración de las raíces restringe la utilidad de la técnica a profundidades de hasta 3-4 m, y al tratamiento aguas poco profundas; c) en algunos casos el proceso de remediación suele ser muy prolongado, siendo más lento en los suelos que en los cuerpos de agua; d) la biodisponibilidad de los compuestos o metales puede constituir un factor limitante para una captación eficaz; e) las contaminaciones potenciales de las cadenas alimentarias y de las napas de agua son riesgos que deben considerarse seriamente; f) los productos de degradación *in planta* (procesos de fitodegradación) no están bien establecidos en muchos casos; g) el marco regulatorio para procesos de fitorremediación se halla aún en proceso de elaboración.

Algunas de las limitaciones mencionadas pueden atenuarse introduciendo modificaciones a las técnicas utilizadas. Por ejemplo, la profundidad de captación puede incrementar-

se mediante implantación de árboles en perforaciones profundas o mediante el bombeo de aguas contaminadas para irrigar plantas fitorremediadoras. Asimismo, la biodisponibilidad de ciertos contaminantes puede incrementarse mediante el agregado de compuestos que aumenten su solubilidad.

El mercado actual de la fitorremediación en Estados Unidos representa entre 100 y 150 millones de dólares al año (en 1999 fue de cerca de 45 millones de dólares), repartiéndose en un 80% para el tratamiento de contaminantes orgánicos y un 20% para contaminantes inorgánicos. Este mercado es todavía incipiente si se considera que la fitorremediación abarca sólo un 0,5% del mercado total de remediación (la biorremediación en su conjunto representa cerca del 2% del mercado total). El uso de este tipo de técnicas no es aún significativo en Europa, pero se espera que, debido a las inversiones realizadas en este campo, se vaya ampliando en el corto y mediano plazo. La Tabla 1 muestra una comparación de los costos de descontaminación para diferentes compuestos tóxicos con distintas estrategias. Como puede verse, en el caso de los contaminantes listados la fitorremediación resulta la opción menos costosa.

### Estrategias de fitorremediación

El término fitorremediación engloba diferentes estrategias para descontaminar el entorno mediante el uso de las plantas. Estas estrate-

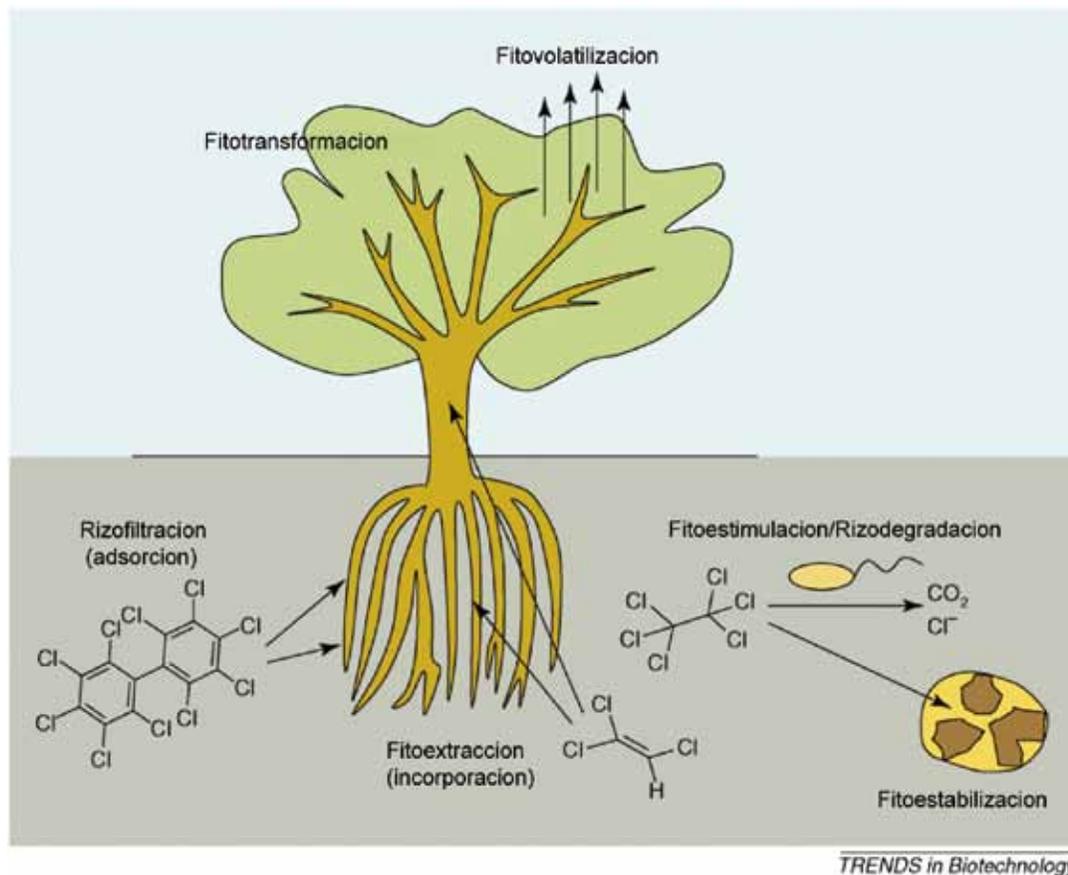
gias se resumen en la Figura 1 y se detallan a continuación. Su uso depende de la superficie y características del ambiente a remediar y de la naturaleza del contaminante, siendo posible implementar combinaciones de las mismas en algunos casos

- **Fitoextracción:** esta estrategia tiene como fin concentrar el contaminante en tejidos cosechables de las plantas (principalmente en la parte aérea). El material cosechado puede convertirse en cenizas, usarse con fines no alimentarios o, como en el caso de algunos metales, para reciclar el contaminante ("fitominería"). Esta técnica se usa principalmente para la remediación de metales y de otros tóxicos inorgánicos (Se, As, radionucleótidos).
- **Fitoestimulación/rizodegradación:** el propósito de esta estrategia es facilitar la degradación de contaminantes presentes en la rizósfera mediante la actividad de microorganismos (bacterias y hongos) asociados a las plantas. Es comúnmente usada para remediar contaminantes orgánicos hidrofóbicos que no pueden ser incorporados por las plantas, pero que pueden ser degradados por los microorganismos. Los ejemplos más destacados de aplicaciones de esta estrategia se refieren a hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorinados e hidrocarburos derivados del petróleo.

Tabla 1. Adaptada de Chappell, 1998

Contaminante	Costo de Fitorremediación	Costo estimado usando otras tecnologías
Metales	U\$D 87,5 por m	U\$D 250 por m
petróleo	U\$D 70.000 por sitio	U\$D 850,000
4 Ha de tierra contaminada con plomo	U\$D 500,000	U\$D 12 millones
Radionucleótidos en agua superficial (4.000 litros)	U\$D 2 a U\$D 6	No determinado
1 hectarea a 15 cm de profundidad (varios contaminantes)	U\$D 2.500 a U\$D 15.000	No determinado

Adaptada de Chappell, 1998.



**Figura 1. Procesos involucrados en la fitorremediación.** La fitorremediación puede involucrar varios procesos: los contaminantes en el suelo y en el agua subterránea pueden ser incorporados a los tejidos vegetales (fitoextracción), o adsorbidos a las raíces (rizofiltración); los contaminantes dentro de la planta pueden ser transformados por enzimas vegetales (fitotransformación), o volatilizados y liberados a la atmósfera (fitovolatilización); los contaminantes del suelo pueden ser degradados por microorganismos de la rizósfera (biorremediación rizosférica), o incorporados al material del suelo (fitoestabilización). Adaptado de van Aken, 2008

- **Fitostabilización:** esta estrategia se basa en utilizar plantas para estabilizar *in situ* los contaminantes del suelo. Por este medio, se previene el filtrado o escape de los contaminantes a capas más profundas o a napas de agua y se los convierte en formas menos biodisponibles (por ejemplo, por precipitación en la rizósfera). Para implementar este enfoque pueden plantarse coberturas vegetales en sitios contaminados, o árboles que actúan como barreras hidráulicas, tanto para contaminantes orgánicos como inorgánicos.
- **Fitodegradación/fitotransformación:** mediante esta estrategia, las plantas degradan los contaminantes orgánicos mediante actividades enzimáticas propias, generando así subproductos no tóxicos o menos tóxicos. El procedimiento ha resultado útil para compuestos orgánicos que se movilizan fácilmente en los tejidos de la planta, como los herbicidas, el trinitrotolueno, y el tricloroetileno.
- **Fitovolatilización/fitotransformación:** en este caso, las plantas incorporan el contaminante y lo convierten a formas volátiles que se liberan luego a la atmósfera a través de la transpiración. Este procedimiento permite extraer elementos como el selenio y algunas formas del mercurio de barros y suelos, para luego liberarlos a la atmósfera como vapor detoxificado. Puede utilizarse para

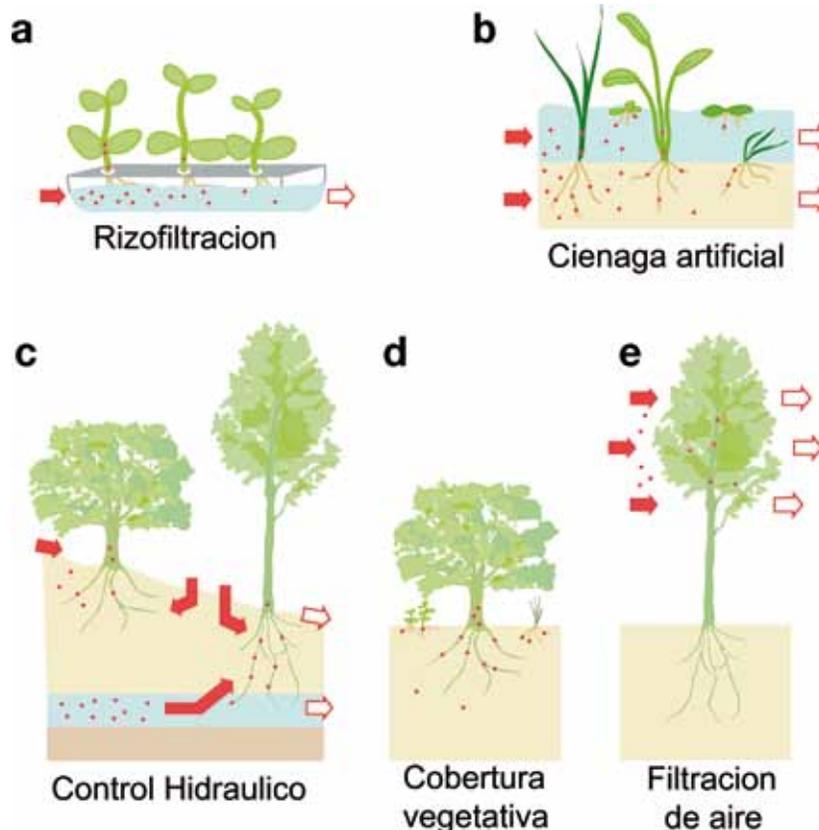
compuestos orgánicos con formas volátiles (tricloroetileno) y para compuestos inorgánicos que pueden existir en forma volátil, como Se y Hg.

- **Rizofiltración:** este procedimiento consiste en la eliminación de tóxicos de ambientes acuáticos mediante el sistema radicular de la planta. En este proceso, las plantas son crecidas en hidroponía para luego ser transplantadas al cuerpo de agua contaminado, donde adsorben y acumulan metales en sus raíces. Si el proceso se realiza en contenedores, es relativamente caro de implementar, siendo más bien apropiado para volúmenes pequeños de aguas residuales contaminadas, por ejemplo, con compuestos inorgánicos peligrosos como radionucleótidos.

Los procesos mencionados no son mutuamente excluyentes. Por ejemplo, en un terreno anegado artificialmente, pueden ocurrir simultáneamente procesos de acumulación, estabilización y volatilización de los contaminantes. Algunos ejemplos de diseños planteados de fitorremediación que resultan de la combinación de las estrategias mencionadas se esquematizan en la Figura 2.

**Características deseables en una planta para fitorremediar**

El diseño del sistema a utilizar para la descontaminación variará según el tipo de compuesto contaminante y su concentración, y de las condiciones específicas del sitio a remediar. Uno de los factores más importantes a determinar es la selección de la especie vegetal. En general, se utilizan especies de rápido cre-



**Figura 2. Esquemas de fitorremediación para tratar diferentes sustratos contaminados.** Tecnologías de fitorremediación utilizadas para remediar distintos sustratos contaminados: agua, suelo y/o aire. Los círculos rojos representan al contaminante. Adaptado de Pilon-Smith, 2007

cimiento, fáciles de crecer y mantener, y que desarrollen gran cantidad de biomasa. Pueden utilizarse plantas, árboles, pastos o algas, prefiriéndose en algunos diseños las especies autóctonas para no modificar la flora local. Las especies más utilizadas comprenden las freatófitas (plantas de raíces profundas como el álamo, sauce, algodónero), las pasturas (debido a que sus raíces son particularmente aptas para retener el suelo), las legumbres (porque permiten la fijación simbiótica de N<sub>2</sub>) y las acuáticas (que permiten la degradación de contaminantes en ciénagas artificiales). Como es obvio, la especie seleccionada deberá descontaminar eficientemente la sustancia tóxica.

Cada estrategia de fitorremediación requiere la presencia de características especiales en la planta a utilizar. Por ejemplo, si se desea emplear la técnica de fitoextracción para contaminantes inorgánicos, éstos deben concentrarse en la planta en altos niveles, translocarse eficazmente y acumularse en los tejidos cosechables. En un esquema basado en fitodegradación, se requerirán sistemas radiculares densos y abundantes y altos niveles de enzimas degra-

dativas. En cambio, si se emplea una estrategia de fitoestimulación, es importante que la planta tenga una gran superficie radicular y produzca los exudados necesarios para promover el crecimiento microbiano.

Existen especies de plantas conocidas como “hiperacumuladoras” que tienen la capacidad de acumular compuestos fitotóxicos (particularmente metales) en concentraciones entre 50 y 500 veces superiores a una planta promedio. El alto poder de concentración del compuesto tóxico, sumado a un sistema eficiente de transporte desde la raíz al tallo, califica a las hiperacumuladoras como candidatas promisorias para ciertos procesos de detoxificación (Tabla 2).

### Procesos biológicos que afectan la fitorremediación

El proceso de fitorremediación depende de una serie de procesos biológicos: aquellos relacionados con las interacciones a nivel rizosférico; los mecanismos de captación, translocación y tolerancia presentes en la planta; la presencia de quelantes vegetales involucrados en transporte y almacenamiento, y el movimiento

**Tabla 2.** Adaptada de Cherian, 2005

Hiperacumuladoras	Metal	Plantas comunes	Contaminantes y entorno
<i>Thlaspi caerulescens</i>	zinc(Zn), cadmio (Cd)	Mostaza parda	Metales pesados, selenio y radionucleótidos en el suelo
<i>Berkheya coddii</i>	níquel (Ni)	álamo	Solventes clorados y nitratos en aguas subterráneas, metales pesados en el suelo
<i>Astragalus racemosus</i>	selenio (Se)	Álamo carolino	Solventes clorados en agua subterráneas; metales, nitratos
<i>Pteris vittata</i>	arsénico (As)	Lenteja de agua	Desechos explosivos en aguas subterráneas
<i>Ipomoea alpina</i>	cobre (Cu)	mora	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en el suelo
<i>Haumaniastrum robertii</i>	cobalto (Co)	girasol	Radionucleótidos en aguas subterráneas
<i>Iberis intermedia</i>	talio (Tl)	pastos	Metales pesados e hidrocarburos en el suelo
<i>Gysophila spaerocephala</i>	boro (B)	alfalfa, enebro	Hidrocarburos en suelos y aguas subterráneas

Adaptada de Cherian, 2005

de los contaminantes en los ecosistemas hacia niveles tróficos superiores. Algunos de los parámetros más importantes relacionados con estos procesos se comentan a continuación:

- **Biodisponibilidad del contaminante:** la biodisponibilidad de un contaminante depende fuertemente de sus propiedades químicas, en particular de su hidrofobicidad y volatilidad. Por ejemplo, las moléculas de extrema hidrofobicidad (bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos y otros hidrocarburos) se unen fuertemente a la materia orgánica y no se disuelven en el agua atrapada en sus poros, presentando así baja biodisponibilidad. Las propiedades del suelo también influyen sobre la biodisponibilidad; los suelos arcillosos y con mayor concentración de materia orgánica retienen más agua que los suelos arenosos y tienen más sitios de unión para iones (especialmente cationes). La biodisponibilidad de los contaminantes inorgánicos que están presentes como cationes es afectada por el pH del suelo (los pHs ácidos la incrementan porque los reemplazan por protones en los sitios de unión). Las condiciones medioambientales son otro parámetro importante; por ejemplo, la temperatura y la humedad pueden aumentar la migración de contaminantes disueltos en agua. Dada la importancia de este factor sobre la fitorremediación, existen numerosas estrategias para aumentar la biodisponibilidad de los contaminantes, que incluyen el agregado de quelantes y la acidificación de los suelos en el caso de los metales (fitoextracción asistida) y el agregado de surfactantes para contaminantes hidrofóbicos.
- **Procesos rizosféricos:** en la rizósfera, la zona comprendida hasta 1 mm de distancia de la raíz, existe una mayor concentración de microorganismos como consecuencia de la liberación de fotosintatos. Muchos poseen capacidad remediadora y la liberación de metabolitos secundarios por parte de la planta puede activar en ellos la expresión de genes relacionados con la degradación de contaminantes. En la rizósfera ocurren procesos que pueden contribuir a incrementar la biodisponibilidad del contaminante. Algunos ejemplos de estos procesos son: a) la liberación de biosurfactantes bacterianos que aumentan la solubilidad de compuestos hidrofóbicos; b) la liberación de exudados vegetales que promueven la síntesis de biosurfactantes bacterianos; c) la liberación de enzimas vegetales y bacterianas capaces de modificar algunos compuestos orgánicos aumentando su biodisponibilidad; d) la liberación de quelantes por parte de plantas y bacterias (sideróforos, ácidos orgánicos y fenólicos) que permiten incrementar la disponibilidad de metales; e) la extrusión de protones por las plantas para acidificar el suelo; f) la liberación de enzimas vegetales que convierten los metales en formas menos tóxicas o más biodisponibles (por ejemplo, CrVI a CrIII).
- **Captación por la planta:** el proceso de captación depende de la naturaleza del contaminante. Por lo general, las plantas no poseen transportadores específicos para los contaminantes orgánicos, los cuales son en su mayoría productos de la actividad humana. De acuerdo con su grado hidrofobicidad, estos compuestos difunden a través de los tejidos vegetales. En cambio, los contaminantes inorgánicos son incorporados mediante transportadores de membrana preexistentes debido a que son naturalmente utilizados como nutrientes o guardan relación con compuestos normalmente captados por las plantas. Por ejemplo, el arsenato es incorporado por transportadores de fosfato y el selenato por transportadores de sulfato. A pesar de que son poco reactivos, su acumulación causa toxicidad debido a que dañan la estructura celular mediante estrés oxidativo y reemplazan nutrientes esenciales.
- **Quelación y compartimentalización:** estos procesos que incluyen distintos tipos de conjugaciones y modificaciones,

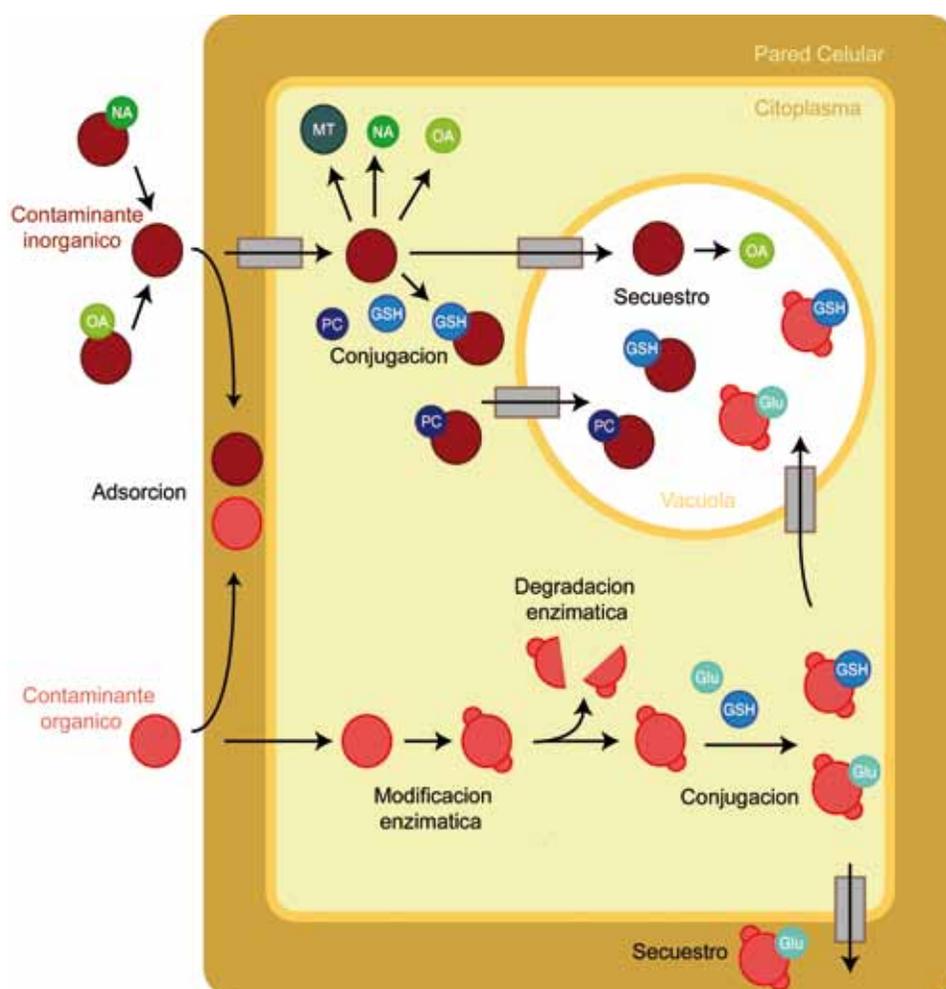
o bien el secuestro en localizaciones subcelulares donde no interfieren con el metabolismo celular, le permiten a las plantas tolerar distintos contaminantes. Algunos de estos procesos se resumen en la Figura 3.

- **Degradación:** este proceso puede aplicarse solo a contaminantes de tipo orgánico, que pueden ser completamente catabolizados (proceso que se denomina "mineralización" y que tiene como productos  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y/o  $\text{Cl}_2$ ), o bien parcialmente degradados a intermediarios estables que se almacenan en la planta

como conjugados. La degradación puede ocurrir tanto en raíces como en la parte aérea de la planta mediante enzimas que modifican los grupos laterales de los compuestos orgánicos permitiendo así su solubilización. Algunas enzimas involucradas en este proceso son las dehalogenasas, mono/di-oxigenasas, peroxidasas, lacasas, nitrilasas, fosfatasas y nitroreductasas.

### Diseño de un esquema de fitorremediación

El diseño del sistema a utilizar para la des-



**Figura 3. Mecanismos de tolerancia de las células vegetales a contaminantes orgánicos e inorgánicos.** La detoxificación generalmente involucra procesos de conjugación seguidos por el secuestro activo del complejo en la vacuola y/o el apoplasto, lugares donde el contaminante genera menos daño. Los compuestos quelantes mostrados en el esquema son: GSH: glutatión, Glu: glucosa, MT: metalotioneínas, NA: nicotinamina, OA: ácidos orgánicos, PC: fitoquelatinas. Los transportadores activos se muestran como cajas con flechas. Adaptado de Pilon-Smith, 2007

contaminación variará según la naturaleza de los compuestos contaminantes, la concentración de los mismos y las condiciones del sitio a remediar. La estrategia de fitorremediación a utilizar es muy importante, ya que el diseño del sistema dependerá de ello. Algunos factores clave a tener en cuenta son:

- **Naturaleza de los contaminantes y selección de la especie vegetal:** para asegurar la correcta elección del sistema de fitorremediación, es necesario establecer fehacientemente el tipo de contaminación. Con el fin de utilizar el sistema más apropiado, pueden realizarse ensayos a pequeña escala para comparar la efectividad de distintas especies de plantas. Es necesario analizar también la cantidad y las características de los compuestos que la planta produce y/o libera.
- **Esquema y densidad de las plantaciones:** la densidad de plantación dependerá de la planta utilizada y del tipo de aplicación. Es importante calcular la cantidad de biomasa producida por unidad de superficie a lo largo del tiempo y, si es necesario realizar plantaciones sucesivas que permitan alcanzar tasas de descontaminación adecuadas.
- **Tasa de captación del contaminante y tiempo de limpieza requerido:** el tiempo total requerido para un determinado esquema de fitorremediación dependerá de las variables apuntadas anteriormente. La tasa de descontaminación puede determinarse aplicando distintas ecuaciones desarrolladas especialmente con este fin.
- **Irrigación, insumos agronómicos y mantenimiento:** la frecuencia y cantidad de las lluvias y las características del clima regional son factores que podrían determinar la necesidad de agua para riego, lo que presupone la existencia costos adicionales para los procesos de fitorremediación terrestre. Es importante analizar los procesos de movimiento y destinación final del agua. Por ejemplo, un árbol maduro es capaz de liberar más de 760 litros de agua por año. En algunos casos, las plantas liberarán al ambiente

productos menos tóxicos que el contaminante original mediante el proceso de transpiración. Otros costos importantes a considerar en el esquema son los de implantación, fertilización, mantenimiento y control, y tareas de cosecha y recolección. Finalmente, no debe excluirse la ocurrencia de eventos recurrentes en la agricultura, tales como plagas, sequías, heladas o la depredación por animales, los que pueden introducir situaciones no previstas en el esquema planteado. Por esta razón, es recomendable disponer de estrategias de contingencia para asegurar el éxito del programa.

### **Estrategias para incrementar la eficiencia de la fitorremediación**

Se han planteado diferentes estrategias para mejorar la eficiencia de los sistemas de fitorremediación haciendo uso de plantas transgénicas. Algunas de estas estrategias son: a) aumento de la incorporación de contaminantes mediante la sobreexpresión y/o alteración de la especificidad de distintos transportadores de membrana, o la expresión y secreción de proteínas o compuestos quelantes; b) aumento de la eficiencia de degradación de contaminantes orgánicos mediante sobreexpresión de enzimas específicas; c) aumento de la acumulación de metales pesados, mediante expresión de enzimas capaces de favorecer su conjugación a moléculas tales como el glutatión y/o las fitoquelatinas.

En muchos casos, los genes utilizados para hacer más eficiente la fitorremediación provienen de animales o de microorganismos, ya que éstos poseen el complemento enzimático necesario para degradar y/o mineralizar las moléculas orgánicas, complementando así las capacidades metabólicas de las plantas. En la medida en que se diluciden las bases moleculares y fisiológicas de los procesos de captación, transporte y acumulación de los contaminantes en las plantas fitorremediadoras, será posible encarar nuevas estrategias de modificación genética en otras especies vegetales. Otras líneas de investigación promisorias apuntan a incrementar la eficiencia del proceso de fitorremediación mejorando las interaccio-

nes entre las plantas y sus microorganismos endófitos, ya sean naturales o genéticamente modificados.

### Ejemplos de fitorremediación

La fitorremediación para la descontaminación de aguas, suelos y aire ha resultado exitosa en un número considerable de casos. Los ejemplos de estas aplicaciones van desde pruebas al nivel de laboratorio o escala piloto, hasta procedimientos a gran escala en zonas afectadas por determinados contaminantes. A continuación se resumen algunos de los casos exitosos.

**Fitorremediación de mercurio:** el mercurio, presente naturalmente en la corteza terrestre, es un metal capaz de causar graves daños cerebrales, cardíacos, hepáticos y pulmonares tanto en animales como en humanos. Se han utilizado distintas técnicas para minimizar el impacto ambiental del mercurio, y uno de las más promisorias es el uso de plantas para extraer este elemento de aguas contaminadas. Por ejemplo se ha demostrado que el pequeño helecho *Azolla caroliniana* es capaz de remover hasta el 93% del mercurio presente en una muestra de agua contaminada en sólo 12 días. Por otro lado, se observó que plantas acuáticas como la milhojas acuática (*Myriophyllum aquaticum*), o la menta de agua (*Mentha aquatica*) remueven el 99,8% del mercurio en un período de 21 días. Investigaciones similares, realizadas con el jacinto de agua (*Eichornia crassipes*), la lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), el junco de agua (*Scirpus tabernaemontani*) y el taro (*Colocasia esculenta*) refuerzan el posible uso de plantas para la remoción de mercurio de aguas contaminadas.

Una estrategia alternativa es el uso de plantas genéticamente modificadas. Se han realizado pruebas de concepto en *Arabidopsis thaliana*, tabaco, canola y álamo introduciendo los genes *merB* y *merA* de *Desulfovibrio desulfuricans*, que codifican una organomercurio liasa y una mercurio reductasa. La primera es capaz de transformar las formas tóxicas del mercurio (metilmercuriales), en compuestos más inocuos (mercurio iónico y metano); mientras que la segunda permite transformar el mercurio iónico en mercurio elemental. La ex-

presión combinada de los genes *merB* y *merA* en una misma planta ha permitido la obtención de líneas que resisten concentraciones de fenilmercurioacetato 100 veces mayores a las que resisten las plantas no transgénicas (Figura 4).

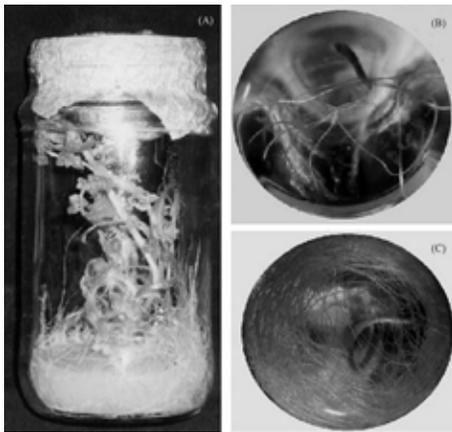


**Figura 4.** Plantas de *Arabidopsis* que expresan tanto *merA* como *merB* son altamente resistentes a mercurio orgánico. La expresión de ambos transgenes permite que el metilmercurio o el PMA se convierta a formas menos tóxicas, como Hg(0). Las plantas MerA/MerB (panel inferior izquierdo) crecen en presencia de altas concentraciones de PMA (5  $\mu$ M) pero las transgénicas simples MerA (panel inferior derecho), MerB y las plantas no transgénicas, mueren. Tomada de Meagher y Heaton; 2005.

**Fitorremediación de fenol:** los contaminantes fenólicos son considerados altamente peligrosos debido a su carcinogenicidad, su alta toxicidad, y su resistencia a la degradación. En general, esta clase de contaminantes se genera a partir de diversas actividades industriales dentro de las que se encuentran las refinerías de petróleo, la producción de plásticos, y el tratamiento de maderas. Los métodos convencionales para eliminarlos son costosos y poco eficientes, incluso pueden generar subproductos que resultan aún más perjudiciales que los compuestos originales. Un método interesante para su descontaminación es el tratamiento enzimático, que consiste en la remoción biológica de fenoles mediante el uso de peroxidasa y oxidasas. Sin embargo, se necesitan grandes cantidades de enzimas para lograr una eficiencia de descontaminación adecuada, lo que dificulta su aplicación a escala industrial.

Una estrategia para superar esta limitación es el uso de plantas enteras como “transformadoras” de fenoles.

Una posible herramienta para procesos de fitorremediación es el cultivo de raíces transformadas con *Agrobacterium rhizogenes* (“raíces en cabellera”). Las raíces de tomate tratadas con esta bacteria contienen altos niveles de peroxidadas, y en consecuencia son capaces de remover fenoles. En un trabajo realizado en el año 2005, en la Universidad de Río Cuarto (Córdoba, Argentina), se obtuvieron raíces en cabellera transgénicas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Pera) que sobreexpresan el gen *tpx1* (Figura 5). Este gen codifica una peroxidasa básica que se localiza en la pared celular de las raíces de tomate. Se analizó la capacidad de dichas raíces para remover fenol utilizando como controles raíces en cabellera de plantas no transgénicas. Las raíces transgénicas fueron capaces de remover hasta un 85% del fenol adicionado, mientras que los controles no transgénicos sólo removieron un 15%. Estos resultados sugieren que las raíces en cabellera podrían resultar herramientas muy útiles para la limpieza de efluentes contaminados.



**Figura 5.** (A) Planta transgénica de tomate *in-vitro*. (B) Raíces en cabellera transgénicas luego de 1 semana en medio líquido. (C) Raíces en cabellera transgénicas después de 4 semanas en medio líquido. Tomado de Weaver Oller y col., 2005

**Fitorremediación de arsénico:** el arsénico (As) es un compuesto altamente tóxico, sus formas predominantes son el arsenato (As V)

y arsenito (As III). El primero interfiere con procesos celulares como la fosforilación oxidativa y la síntesis de ATP, mientras que el segundo se une a grupos sulfhidrido en detrimento de la función proteica en general. La mayor fuente de contaminación del agua beбible y de la cadena alimentaria son los cursos de agua, suelos y sedimentos contaminados con As. Esto ha causado envenenamientos masivos que, entre otros síntomas, generan lesiones y cánceres en la piel.

En la naturaleza, las actividades geoquímicas y microbianas contribuyen también a la movilización del As hacia el ambiente. Sin embargo, es la actividad humana la que más contribuye a este proceso, exacerbando así el problema. En India y Bangladesh, la contaminación de aguas con As pone en riesgo la alimentación basada en cultivos tales como el arroz y el maíz. Estas especies son capaces de acumular As en sus granos, lo que genera riesgos potenciales para los consumidores humanos. Los métodos físicos y químicos aplicados hasta hoy para disminuir las contaminaciones de As no han resultado exitosos. En este contexto, las algas y plantas acuáticas hiperacumuladoras de As se presentan como una opción prometedora.

En el año 2002 un grupo de investigadores diseñó un sistema de fitorremediación de As basado en plantas de *Arabidopsis thaliana* transgénicas, capaces de convertir el arsenato en arsenito, el cuál era luego secuestrado en las hojas en complejos de péptidos que contienen tioles. En primer lugar generaron plantas transgénicas que expresaban el gen bacteriano de la arsenato reductasa (*arsC*), bajo la dirección de un promotor de hoja inducible por luz. En consecuencia, la enzima transgénica sólo se expresa en las hojas y estas plantas son hipersensibles al arsenato. Por otra parte, se obtuvieron plantas transgénicas que expresaban el gen bacteriano  $\gamma$ -glutamylcisteina sintetasa ( $\gamma$ -ECS) bajo un promotor constitutivo. Estas plantas mostraron una moderada tolerancia al As en comparación con plantas no transgénicas. Finalmente, en aquellas plantas que expresan simultáneamente ambos transgenes (*arsC*/ $\gamma$ -ECS), se observó un efecto potenciado de tolerancia al As. En medios con concentraciones elevadas de As, las plantas *arsC*/ $\gamma$ -ECS crecen y son capaces de generar entre 4 y 17 veces más biomasa que las plantas no transgénicas o las transgénicas que expresan solo

una de las enzimas. Además, se observó que acumulaban entre 2 y 3 veces más arsénico por gramo de tejido que las plantas control.

### **Aplicaciones comerciales**

#### **Tratamiento de contaminaciones con metales pesados**

La empresa norteamericana *Edenspace Systems Corporation* comercializa plantas con aplicaciones energéticas y ambientales. La compañía provee tecnologías fitoambientales basadas en plantas hiperacumuladoras de metales y brinda servicios para descontaminar arsénico, plomo, uranio y compuestos orgánicos de suelos y aguas. Además, provee prestaciones complementarias a la fitorremediación que incluyen análisis de factibilidad, biodisponibilidad, consultorías, etc. *Edenfern™* (Figura 6) es un sistema que se desarrolló en la Universidad de Florida y se licenció a Edenspace. Se basa en el uso de un helecho (*Pteris vittata*) capaz de absorber arsénico del suelo, lodo, o agua, con una eficiencia 200 veces mayor que cualquier otra planta. Luego de un cierto período, los helechos son removidos y descartados de manera segura, dejando el terreno libre de arsénico. Si se asume una concentración de arsénico en el suelo de 50 mg/kg, este procedimiento permite reducir los niveles de As hasta 10 mg/kg en 2 - 4 meses. Este sistema puede extraer arsénico del suelo en concentraciones que van desde menos de 1 mg/kg hasta 2.500 mg/kg. En 2007 este sistema fue aplicado con resultados promisorios en una pequeña propiedad residencial en Virginia (EEUU) cuyo suelo contenía altas concentraciones de arsénico

debido al uso de pesticidas. La misma técnica de remoción de As se ha utilizado para descontaminar agua utilizando un sistema de fitofiltración. *Pteris vittata* puede reducir la concentración de As presente en el agua desde concentraciones de 200 mg/L a menos de 50 mg/L en sólo 2 días, permitiendo la remoción completa al cabo de 3 días.

#### **Tratamiento de aguas residuales urbanas**

Los sauces pueden ser utilizados con fines de fitorremediación para el tratamiento de aguas residuales urbanas que contienen altas concentraciones de nitrógeno y fósforo. Estas sustancias forman una solución nutritiva que puede ser utilizada para el riego de dichos árboles, y así son “biotransformadas” en biomasa útil. En Enköping, una ciudad de Suecia con unos 20.000 habitantes, se utiliza un sistema de fitorremediación para tratar el agua residual rica en nitrógeno procedente del fango de alcantarillado (previamente tratada en una planta depuradora). El efluente se distribuye por una plantación de sauces de 75 hectáreas durante el período de crecimiento (Figura 7). Las aguas contaminadas contienen unos 800 mg/L de nitrógeno. El sistema trata unas 11 toneladas de nitrógeno y 0,2 toneladas de fósforo al año en un volumen de 200.000 m<sup>3</sup> de aguas residuales. Los posibles riesgos medioambientales, como emisiones de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) a la atmósfera, son analizados continuamente; los resultados obtenidos hasta el presente indican que los mismos son mínimos.



**Figura 6.** Edenfern™



**Figura 7.** Sistema de fitorremediación que utiliza una plantación de 75 hectáreas de sauces en Enköping, Suecia. Planta de tratamiento de aguas residuales (primer plano), piletas para almacenar las aguas en invierno (al fondo) y campos de sauces regados con efluentes de fangos. P. Aronsson

### Lecturas recomendadas

Bennicelli R, Stepniewska Z, Banach A, Szajnocha K, Ostrowski J. 2004. The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. *Chemosphere*, 55, 141-6.

Chappell J. 1998. Phytoremediation of TCE in groundwater using *Populus*. US Environmental Protection Agency. En <http://clu-in.org/products/intern/phytotce.htm>

Cherian S. And Oliveira M.M. 2005. Transgenic Plants in Phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science and Technology*, 39, 9377-9390.

Dhankher OP, Li Y, Rosen BP, Shi J, Salt D, Senecoff JF, Sashti NA, Meagher RB. 2002. Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and gamma-glutamylcysteine synthetase expression. *Nature Biotechnology*, 20, 1140-5.

Doty S.L. 2008. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist*, 8, 179-188.

Kamal M, Ghaly AE, Mahmoud N, Côté R. 2004. Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environ Int*, 29, 1029-39.

Meagher RB, Heaton AC. 2005. Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 32, 502-513.

Dimitriou I. y Aronsson P. 2005. Sauces para energía y fitorremediación en Suecia. *Unasyuva* 221, 56, 47-50.

Pilon-Smits E. 2007. Phytoremediation. *Ann Rev Plant Biology*, 56, 15-39.

Skinner K, Wright N, Porter-Goff E. 2007. Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants. *Environmental Pollution*, 145, 234-237.

Van Aken B. 2008. Transgenic plants for phytoremediation: helping nature to clean up environmental pollution. *Trends in Biotechnology*, 26, 225-227.

Wevar Oller AL, Agostini E, Talano MA, Capozucca C, Milrad SR, Tigier HA, Medina MI. 2005. Overexpression of a basic peroxidase in transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Pera) hairy roots increases phytoremediation of phenol. *Plant Science*, 169, 1102-1111.

EDENSPACE: <http://www.edenspace.com>

Video explicativo de la *Environmental Protection Agency* (EPA, USA), *Crozet Phytoremediation*: [http://www.epa.gov/oerrpage/superfund/misc/crozet\\_phyto.htm](http://www.epa.gov/oerrpage/superfund/misc/crozet_phyto.htm)