

Fitorremediación de un suelo contaminado con dos niveles de cobre, mediante el uso del cultivo de la alfalfa “*Medicago sativa*”

Janet Gonzales¹, María del Pilar Aponte², Eva Bustamante³, Juleisy Chomba⁴

1 Magister docente de la Universidad Católica de Trujillo “Benedicto XVI”,

2, 3, 4. Alumnos de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad Católica de Trujillo “Benedicto XVI”.

Janet Gonzales Valdivia .Carretera Panamericana Norte Km. 555-Trujillo-Perú.

jgonzales@UCT.edu.pe

5 Tablas y 1 figura, 2831 palabras

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto de la especie *Medicago sativa* “alfalfa” como fitorremediadora en un suelo contaminado con dos niveles de cobre. Para tal fin se decidió contaminar de manera artificial un suelo franco arenoso con 0,53 gr CuSO₄/kg de suelo (tratamiento 1) y 0.66 gr CuSO₄/kg de suelo (tratamiento 2). Después de 2 meses los niveles de cobre disminuyeron notablemente en el suelo sembrado con alfalfa de 278 ppm a 124 ppm y de 293 ppm a 143 ppm respectivamente en el tratamiento T1 y T2. Hubo mayor acumulación de cobre en la raíz que en el tallo, el tratamiento T2 acumuló 78 ppm, valor mayor que el T1 con 44 ppm. La acumulación de cobre en los tallos fue mayor en el T2 con 21 ppm seguido del T1 con 18 ppm. Se considera a *Medicago sativa* como una planta Fitorremediadora indiferente de los niveles de cobre utilizados.

Palabras claves: Alfalfa, cobre, fitorremediación.

ABSTRACT

The present investigation was carried out with the objective of determining the effect of *Medicago sativa* "alfalfa" as a phytoremediator in a soil contaminated with two copper levels. For this purpose, it was decided to artificially contaminate a sandy loam soil with 0.53 gr CuSO₄ / kg of soil (treatment 1) and 0.66 gr CuSO₄ / kg of soil (treatment 2). After 2 months the copper levels decreased markedly in the soil planted with alfalfa from 278 ppm to 124 ppm and from 293 ppm to 143 ppm respectively in the treatment T1 and T2. There was greater accumulation of copper in the root than in the stem, T2 treatment accumulated 78 ppm, higher than T1 with 44 ppm. The accumulation of copper in the stems was higher in T2 with 21 ppm followed by T1 with 18 ppm. *Medicago sativa* is considered as a phytoremediation plant indifferent to the copper levels used.

Key words: alfalfa, copper, phytoremediator

INTRODUCCIÓN

La fitorremediación (phyto = planta y remediación = mal por corregir), es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos, lodos y sedimentos, y puede aplicarse tanto in situ como ex situ. Los mecanismos de fitorremediación incluyen la rizodegradación, la fitoextracción, la fitodegradación y la fitoestabilización y fitovolatilización. El cobre es un metal esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Es un micronutriente que participa en muchos procesos fisiológicos y un cofactor esencial para muchas metaloproteínas. Sin embargo, también es potencialmente tóxico y los problemas se dan cuando se encuentra en exceso en las células. El Cu genera serios problemas debido a su amplio uso industrial (manufactura de muchos productos tales como amalgamas, esmaltes y pigmentos, reactivos para curtiembre, plaguicidas, prótesis médicoquirúrgicas) y agrícola, ya que algunas aplicaciones de Cu como fungicida, puede suponer exposiciones a concentraciones elevadas. Durante mucho tiempo, se ha desarrollado una gama amplia de tecnologías de limpieza para eliminar los metales tóxicos del agua y del suelo. Entre estas cabe destacar la biorremediación como una posible solución futura a muchos problemas de contaminación, debido a que son consideradas en todo el mundo una tecnología innovadora para el tratamiento de residuos tóxicos, dentro de sus variantes, se encuentra la fitorremediación, que se basa en el empleo de plantas para limpiar ambientes contaminados, siendo la fitoextracción y la fitoestabilización las técnicas más aplicadas. Además, se han utilizado reguladores del crecimiento en la fitorremediación con plantas, tales como auxinas y citoquininas para disminuir su contaminación por metales pesados; pues estos reguladores potencialmente incrementan la velocidad de crecimiento y la biomasa en plantas hiperacumuladoras. Así como agentes quelatantes como el EDTA y ácidos húmicos y fúlvicos. Los objetivos de esta investigación fue: evaluar el efecto remediador del cultivo de la alfalfa *Medicago sativa* en un suelo contaminado con dos niveles de cobre, y comparar donde en que parte de los tejidos tiende acumularse.

MATERIALES Y METODOS

1.- Tratamientos y diseño experimental

Se consideró dos niveles de cobre, los cuales fueron 0,53 gr CuSO_4 /kg de suelo para el tratamiento 1 y 0.66 gr CuSO_4 /kg de suelo para el tratamiento 2, a la vez se consideró un testigo control el cual no se adicione cobre al suelo. La especie vegetal utilizada *Medicago sativa* “alfalfa”, la cual ha demostrado en trabajos previos buena capacidad de ser una planta utilizada para la fitorremediación. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (BCA), en el cual se consideró cuatro bloques con 10 repeticiones por cada tratamiento.

Tabla N°1 Descripción de los niveles de CuSO_4 utilizados en cada tratamiento.

Tratamiento	Especie Vegetal	CuSO_4 (gr/kg de suelo)
T1	Alfalfa	T1 0,53 gramos/ kg de suelo
T2	Alfalfa	T2 0.66 gramos/ kg de suelo
Testigo (T)	Alfalfa	T sin cobre

2.- Preparación del suelo:

El suelo que se utilizó fue un suelo franco arcilloso, proveniente del campus universitario de la Universidad Católica de Trujillo. Para mejorar las condiciones de estructura y textura del suelo se decidió realizar una enmienda de humus de lombriz, logrando una mezcla homogénea de suelo y humus en una proporción de 50% de suelo y 50% de humus de lombriz.

3.- Fuente de cobre utilizado:

Para fines de esta investigación La fuente de cobre utilizada fue el Sulfato de Cobre (CuSO_4) también llamado **sulfato** cúprico, es un compuesto químico derivado del cobre que forma cristales azules, solubles en agua y metanol y ligeramente solubles en alcohol y glicerina. Su formulación es en polvo.

4.- Enmienda:

Se seleccionó una cantidad conocida de suelo (72kg) para cada tratamiento en estudio, y de manera individual se procedió a realizar la mezcla con el sulfato de cobre siguiendo las cantidades establecidas en cada uno de los tratamientos.

Fitorremediación usando *Medicago sativa* “alfalfa”

Para poder llegar a la concentración deseada, nos basamos en un trabajo de investigación anterior en el cual se obtuvo una concentración de 300 mg/kg de suelo aplicando 0,4 gr de CuSO_4 /kg de suelo.

Tabla 2: Gramos de CuSO_4 aplicados a 72 kg de suelo

Tratamientos CuSO_4 (gr/kg de suelo)	CuSO_4 en 72 kg de suelo
T1 0,53 gramos/ kg de suelo	38.16 gr
T2 0.66 gramos/ kg de suelo	47.53 gr

5.- Evaluaciones:

Después de dos meses de mantener las plantas en el medio contaminado se extrajeron las plantas para evaluar los niveles de cobre tanto en el suelo como en los tejidos vegetales.



Figura 1: Preparación de las plantas de 2 meses para el análisis.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Niveles de cobre después de la contaminación artificial.

Tabla 3: Valores de cobre (ppm) disponible en el suelo.

Descripción del Tratamiento	Valor (ppm) Cu
T1 0,53 gramos/ kg de suelo	278
T2 0.66 gramos/ kg de suelo	293
Testigo T	44

Fuente: Laboratorio de suelo y plantas de la Universidad Nacional de Trujillo

Fitorremediación usando *Medicago sativa* “alfalfa”

En la tabla 1 se muestra los valores en ppm obtenidos después de la aplicación a, en donde se puede apreciar que para el tratamiento 1 se logró llegar a niveles de 278 ppm y para el tratamiento T2 283 ppm y el testigo sin cobre 44 ppm. Según Olivares 2013, considera que los niveles fitotóxicos están en valores de (100 mg/kg), por lo tanto los resultados que obtuvimos estarían sobrepasando los niveles normales.

Metal	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)	Coficiente de variación (%)	Niveles aceptables para la producción de alimentos sanos* (mg/kg)	Niveles considerados fitotóxicos* (mg/kg)	Niveles medios en los suelos agrícolas cubanos** (mg/kg)
Cd	0.24	2.1	60	0.53	3.0	0.25
Cu	38.4	81.3	22	23.0	100.0	28.6
Zn	44.1	294.7	56	110.0	300.0	38.0
Pb	18.1	138.5	66	20.0	100.0	8.2

Olivares, et al 2013

2.- Niveles de cobre obtenidos en los suelos después de dos meses de cultivada alfalfa.

Tabla 4: Valores de Cu obtenidos en el suelo después de dos meses

Descripción del Tratamiento	Valor (ppm) Cu
T1 0,53 gramos/ kg de suelo	124
T2 0.66 gramos/ kg de suelo	143

Fuente: Laboratorio de suelo y plantas de la Universidad Nacional de Trujillo

Después de dos meses de desarrollo de las plantas de *Medicago sativa* “alfalfa”, los niveles de cobre disminuyeron notablemente en el suelo. En el tratamiento 1 disminuyó a 124 ppm lo que representa (55%), y el tratamiento 2 a 143 ppm que representa (51%). Con estos resultados podríamos afirmar que hubo un efecto remediador de suelo con la alfalfa. Como menciona Bonilla (2013), las especies *Amaranthus hybridus*, *Medicago sativa*, y *Beta vulgaris*, presentaron capacidad de acumular plomo, al estar expuestas en suelos contaminados con este metal. La capacidad hiperacumuladora que presentan estas especies se presentan a medida que aumenta el tamaño y la edad de la planta, lo que hace que estas especies presenten un potencial para la remediación de suelos contaminados con plomo y otros metales. Bernal (2014) demostró que la alfalfa acumula alrededor de 62% de plomo en el suelo a pH = 5,5; 32% más en comparación con las especies de plantas malezas que crecen en los suelos experimentales a pH = 5,4. Olivares (2013), realizó a nivel de laboratorio un ensayo donde se expusieron a las semillas de

Fitorremediación usando *Medicago sativa* “alfalfa”

girasol, menta y alfalfa, a diferentes concentraciones de cadmio en un medio hidropónico, por un tiempo de 45 días, se analizó la reducción del metal y los cambios fisiológicos de las plantas, en los análisis se obtuvo que la especie de alfalfa tuvo la capacidad de reducir la mayor cantidad de cadmio presente en el agua, reduciendo su concentración de 10 ppm a 6,4 ppm en 30 días.

3.- Niveles de cobre obtenidos en los tejidos de la alfalfa después de 2 meses de cultivada.

Tabla 5: Valores de Cu obtenidos en raíces y tallo de alfalfa

Tratamiento	ppm Cu (raíz)
T1 0,53 gramos/ kg de suelo	44
T2 0.66 gramos/ kg de suelo	78
Testigo T	41
Tratamiento	ppm Cu (tallo)
T1 0,53 gramos/ kg de suelo	18
T2 0.66 gramos/ kg de suelo	21
Testigo T	17

Fuente: Laboratorio de suelo y plantas de la Universidad Nacional de Trujillo

Se observa acumulación de cobre en la raíz que en el tallo, la mayor acumulación fue en el tratamiento T2 con 78 ppm, mayor que el T1 44 ppm y el testigo. Al igual sucedió con la acumulación en los tallos el T2 acumulo 21 ppm. En un estudio Gardea (2004), demostró que la alfalfa, tiene capacidad de absorción de oro y plata en sus raíces y tallo, los resultados mostraron que cuando el medio contenía 320 mg L⁻¹, de oro o plata, la absorción y transporte de oro fue mayor, comparado con la absorción y transporte de plata, las concentraciones de oro y plata encontradas en los tallos de las plantas de alfalfa indican que esta especie tiene posibilidades para ser usada en la fitominería de oro y plata, si las condiciones del suelo permiten su cultivo. Bernal (2014), al comparar la acumulación de cadmio y plomo en alfalfa encuentran que esta especie acumula 0,711 de cadmio y 0,888 de plomo. En diferentes estudios se señala que alfalfa es utilizada en Fitorremediación de compuestos aromáticos. Granados (1991), menciona que cuando las plantas crecen en un medio alto en Cu, este elemento se acumula primeramente en la raíces, lo que puede resultar en raíces dañadas, como lo mostraron Castillo y Parra (1959) en semilleros de café, debido a que las diferentes partes de las plantas son afectadas de manera diversa, se examinó el efecto de varios niveles de Cu sobre el contenido del elemento en raíces, tallos y hojas de plantas de almacigo de café. Se encontró que el Cu

Fitorremediación usando *Medicago sativa* “alfalfa”

aumento en forma proporcional a las aplicaciones y con el tiempo. Las raíces no mostraron síntomas de deterioro un con las dosis más altas.

León (2016) menciona que el control sobre el estado electroquímico y la especiación química de los metales pesados en las partes superiores de la planta es una condición que debe tener toda planta hiperacumuladora, una vez que el tóxico ha sido transportado a las partes superiores de la planta, este se concentra y se almacena; este paso requiere de la transformación a especies más o menos reactivas que favorezcan esta acumulación.

CONCLUSIONES

- Después de 2 meses los niveles de cobre disminuyeron notablemente en el suelo sembrado con alfalfa de 278 ppm a 124 ppm y de 293 ppm a 143 ppm respectivamente en el tratamiento T1 0,53 gramos/ kg de suelo y T2 0.66 gramos/ kg de suelo.
- Hubo mayor acumulación de cobre en la raíz que en el tallo, el tratamiento T2 con 78 ppm, mayor que el T1 con 44 ppm.
- La acumulación de cobre en los tallos fue mayor en el T2 con 21 ppm seguido del T1 con 18 ppm.
- Se considera a *Medicago sativa* como una planta Fitorremediadora indiferente de los niveles de cobre utilizados.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a la Universidad Católica de Trujillo, por impulsar a la investigación, la cual permite enriquecer la experiencia de los docentes al igual que a nuestros alumnos. Al mismo tiempo agradezco al decano de la facultad de Ingeniería y Arquitectura Fernando Saldaña Milla, por todo su apoyo y por ultimo sin ser menos importantes a nuestros alumnos de la carrera de Ingeniería ambiental quienes fueron los coautores de esta investigación.

REFERENCIAS

1. ABRIL V LUISA. “ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA VELOCIDAD DE DEGRADACIÓN DE CROMO VI APLICANDO FITORREMEDIACIÓN EN MEDIOS FÍSICOS DIFERENTES: SUELO Y AGUA”. Tesis para optar el título de Ingeniería en Biotecnología Ambiental. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA Ambiental. RIOBAMBA-ECUADOR. 2016.
2. Baker A, J M, McGrath, S.P., Reeves, R.D., Smith, J.A.C. (2000). in Terry N., Bañuelos, G., Phytoremediation of contaminated soil and water. Lewis Publishers, Boca Raton, **FL, 85-107**.
3. Bernal B, Claudio R, Lynett S, Boshell R. Remediación de suelos contaminados con plomo (11) por fitotecnologías correctivas - *Medicago sativa* L. (Alfalfa). 2014. Centro de bioprospección e ingeniería química aplicada al estudio de biomolecular e industria. Revista Ingeniería Química. págs. 29-37.
4. Bonilla Sara. Estudios para Tratamiento de Biorremediación de suelo contaminados con plomo, utilizando el método de Fitorremediación. Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito campus Sur. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental. 2013.
5. Cartaya O, Guridi F, Cabrera A, Moreno A, Hernández Y. EFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE OLIGOGALACTURÓNIDOS A PLÁNTULAS DE TOMATE (*Solanum Lycopersicum* L.) EN LA FITOEXTRACCIÓN DE COBRE DE SUELO CONTAMINADO. Cultivos Tropicales [serial on the Internet]. (2017, July), [cited June 11, 2018]; 38(3): 142-147. Available from: Fuente Académica Premier.
6. Deng S, & Zeng D. Removal of phenanthrene in contaminated soil by combination of alfalfa, white-rot fungus, and earthworms. Environmental Science & Pollution Research, 24(8), 7565-7571. doi:10.1007/s11356-017-8466-y (2017).
7. Gardea-Torresdey Jorge L., Eduardo Gómez, José R. Peralta-Peralta-Videa, Kirk J. Tiemann, Jason G. Parsons, Horacio Troiani y Miguel José Yacaman. (2004) Fitorremediación de metales pesados y formación de nanopartículas usando plantas de alfalfa. Ciencia en la frontera Revista de ciencia y tecnología de la UACJ 49-60 p
8. Granados L, Bornemisza E. EFECTO DE LAS CONCENTRACIONES DE COBRE EN E SOBRE LOS CONTENIDOS DE NUTRIMENTOS EN PLANTAS DE ALMACIGO DE CAFE cv. CATUAI ROJO1.Agronomía Costarricense. 1991.
9. Kisiel A, & Kępczyńska E. *Medicago truncatula* Gaertn. as a model for understanding the mechanism of growth promotion by bacteria from rhizosphere

Fitorremediación usando *Medicago sativa* “alfalfa”

- and nodules of alfalfa. *Planta*, 243(5), 1169-1189. doi:10.1007/s00425-016-2469-7. (2016).
10. León Tapia Ingrid. EVALUACIÓN DE LA *Medicago sativa* L (ALFALFA), *Cecropia peltata* L (GUARUMO) y *Arachis pintoi* W.C (MANÍ FORRAJERO) COMO POTENCIALES ESPECIES FITORREMEIADORAS PARA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR MINERÍA AURÍFERA EN LAS RIVERAS DEL RÍO NAMBIJA, BARRIO PUENTE AZUL, CANTÓN ZAMORA”. Tesis para optar el título de Ingeniera en Manejo y Conservación del Medio Ambiente. Universidad Nacional de Loja. 150 pp. 2016.
 11. Obeso A, Castillo A, Gurreonero J, León J, Vejarano R. Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados mediante cultivo de geranio (*Pelargonium zonale*). VIII Encuentro Científico Internacional del Norte (ECI Norte). 21-22 Abril 2017. Trujillo, Perú.
 12. Olivares R, García S, Damaris, Lima C, Saborit L, Israel L, Pérez A. NIVELES DE CADMIO, PLOMO, COBRE Y ZINC EN HORTALIZAS CULTIVADAS EN UNA ZONA ALTAMENTE URBANIZADA DE LA CIUDAD DE LA HABANA, CUBA. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29 (4) 285-294, 2013.
 13. Plevich J, Angel R, Delgado C, Saroff J, Tarico C, Crespi & Omar M. Barotto. El cultivo de alfalfa utilizando agua de perforación, agua residual urbana y precipitaciones *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.16, n.12, p.1353–1358, 2012 Campina Grande, PB, UAEA/UFCG – <http://www.agriambi.com.br> Protocolo 268.11 – 14/11/2011 • Aprovado em 28/09/2012
 14. Palacios C, Gino. “Evaluación de la capacidad fitoextractora de la alfalfa (*Medicago sativa*) y perejil (*Petroselinum crispum*) en la remediación de suelos contaminados por Plomo en el distrito de Anta – Carhuaz, 2016”. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental. Universidad Cesar Vallejo.
 15. Ruiz-Olivares A, González-Chávez M, Carrillo-González R. *Ricinus communis* L., Y *Pseudomonas* sp. PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE MINA. *Agroproductividad* [serial on the Internet]. (2017, Apr), [cited June 11, 2018]; 10(4): 48-56. Available from: Fuente Académica Premier.