

Biorremediación de mercurio en suelos mediante Zea Mays Inoculado con Pseudomonas Putida y la Adición de Compost

Proyecto en curso

Roxana García Cienfuegos
Ingeniería Ambiental
roxanagarcia100@hotmail.com

EileenKaterine Jaramillo
Ingeniería Ambiental
katjaramillo98@gmail.com

Jannine Selena Tabares
Ingeniería Ambiental
jtabares@est.colmayor.edu.co

Evelyn Andrea Obregón
Ingeniería Ambiental
eobregon@est.colmayor.edu.co

Laura Osorno Bedoya
Doctora en Biotecnología
laura.osorno@colmayor.edu.co

Colegio Mayor de Antioquia
Ingeniería Ambiental



Resumen del proyecto:

El mercurio (Hg) usado en la minería aurífera ocasiona contaminación en suelos, aire y agua. Este se dispersa en los ecosistemas afectando la fauna, la flora, los mineros y las comunidades cercanas. El metal genera grandes impactos en el suelo alterando su composición química, física y biológica. Por lo cual, se buscan diversos mecanismos para remediar su presencia en el ambiente. Una alternativa son los procesos de biorremediación. El concepto de biorremediación describe una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias) para remover, degradar o transformar compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos o inocuos.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de *Zea mays*, *Pseudomonas putida* y materia orgánica como biorremediadores de suelos contaminados con mercurio durante un período de tiempo cuatro meses, utilizando cuatro tratamientos: inóculo con *Pseudomonas putida*, adición de compost, *Pseudomonas putida* más compost y hubo un control no inoculado.

Los resultados de la investigación mostraron que el suelo tenía una importante carencia de nutrientes esenciales y estaba contaminado encontrándose una concentración de 59.903 ppm de mercurio. El tratamiento control y el de *Pseudomonas putida* no tuvieron diferencias significativas para el desarrollo de las plantas de maíz en un suelo de estas condiciones. Fue el tratamiento de *Pseudomonas putida* y materia orgánica el que logró el mejor efecto en el desarrollo de *Zea mays*. Finalmente, se evaluó el porcentaje de remoción de mercurio en el suelo y se definió la efectividad de los procesos (en espera de resultados).

Palabras claves: biomasa, mercurio, *Pseudomonas putida*, tratamientos y *Zea mays*.

Abstract:

Mercury (Hg) used in gold mining causes contamination in soil, air, and water. This is dispersed in the ecosystems affecting the fauna, flora, miners and nearby communities. The metal generates great impacts on the ground, altering its chemical, physical and biological composition. Therefore, various mechanisms are sought to remedy its presence in the environment. An alternative is bioremediation processes. The concept of bioremediation describes a variety of systems that use living organisms (plants, fungi, bacteria) to remove, degrade or transform toxic organic compounds to less toxic or harmless metabolic products. The objective of this research was to evaluate the effect of *Zea mays*, *Pseudomonas putida* and organic matter as bioremediators of soils contaminated with mercury during a period of 4 months, using 4 treatments: inoculum with *Pseudomonas putida*, addition of compost, *Pseudomonas putida* plus compost and there was a non-inoculated control. The results of the investigation showed that the soil had a significant lack of essential nutrients and was contaminated by 59,903 ppm of mercury. The control treatment and the treatment of *Pseudomonas putida* did not have significant differences for the development of corn plants in a soil of these conditions. It was the treatment of *Pseudomonas putida* and organic matter that achieved the best effect on the development of *Zea mays*. Finally, the percentage of mercury removal in the soil was evaluated and the effectiveness of the processes was defined (awaiting results).

Keywords: biomass, Mercury, *Pseudomonas putida*, treatments and *Zea mays*.

Introducción:

Una fuente de gran contaminación se presenta con el uso del mercurio (Hg) usado en la minería aurífera. Entre los impactos que produce el Hg se encuentra la presente del aire, afectación a la salud humana, la de aguas y la de suelos (Restrepo et al., 2015). En los suelos, el Hg modifica sus propiedades físicas, químicas y causa la intoxicación de las especies que se desarrollan allí. Por esta razón, se buscan diversos mecanismos para remediar el Hg. Una alternativa son los procesos de biorremediación. El concepto de biorremediación describe una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos para remover, degradar o transformar compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos o inocuos.

Planteamiento del problema y justificación:

La contaminación por mercurio se ha incrementado por las actividades mineras e industriales. Según la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades el Hg ocupa la tercera posición en la lista de principales de sustancias peligrosas (Kumari et al., 2020). En los suelos el Hg modifica sus propiedades y causa la intoxicación de las especies que se desarrollan allí. Una solución es remediar el suelo a través de procesos físicos, químicos o biológicos también denominados procesos de biorremediación.

Objetivo General:

Evaluar el efecto de *Zea mays*, *Pseudomonasputida* y Champiñonaza para la biorremediación de suelos contaminados con mercurio.



Objetivos Específicos:

1. Realizar la caracterización fisicoquímica del suelo contaminado con mercurio.
2. Evaluar el crecimiento de *Zea mays* en suelos contaminados con mercurio.
3. Evaluar el efecto de remediación de mercurio en suelos con la cepa *Pseudomonasputida* Champiñonaza.

Marco teórico:

La biorremediación del Hg es un proceso que busca la remoción de contaminantes sin que afecte el ambiente y teniendo efectos positivos en el suelo, con el uso de microorganismos, materia orgánica compostada y plantas (Martínez et al., 2018). Dentro de las bacterias reportadas como remediadoras de Hg está el género *Pseudomonas*. Estas se caracterizan por su amplia versatilidad metabólica, así como por su gran adaptabilidad a diversos medios, como suelos, aguas y alimentos. La materia orgánica compostada es empleada como abono orgánico, y mejora las propiedades físicas y químicas del suelo. *Zea mays* puede adaptarse a cualquier tipo de suelo (Guacho-Abarca, 2014) y su crecimiento puede demorar de 80 a 200 días, desde su siembra hasta su cosecha (Grande & Orozco, 2013).

Metodología:

El experimento se desarrolló en el invernadero en la empresa Biofertilizar SAS (Rionegro, Antioquia). La muestra del suelo se tomó a una profundidad de 0 a 30 cm de la mina de oro La

Leticia (Cáceres, Bajo Cauca antioqueño). Este se secó al aire y se tamizó (4 mm). Se tomaron dos submuestras para un análisis físicoquímico del suelo y otra para determinar la concentración de mercurio (absorción atómica). Posteriormente, el suelo se sirvió en macetas con una capacidad de 2 kg. Se realizaron cuatro tratamientos (un control, inoculación con *Pseudomonas putida*, adición de compost y *Pseudomonas putida* más compost) cada uno con tres repeticiones. La *P. putida* fue una muestra comercial de la empresa Biofertilizar SAS, y se usó 5 ml a una concentración $2,5 \times 10^7$ UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro). El compost fue una muestra comercial de champiñonaza de la empresa Biorgánicos SAS, se adicionó 100 g por maceta. En cada maceta se sembraron 3 semillas germinadas de *Zea mays*. Después de 15 días se hizo un raleo para dejar solo una planta. Las plantas estuvieron creciendo bajo condiciones de invernadero durante 90-120 días. Fueron regadas con agua y con solución Hoagland para mantenerlas a capacidad de campo. Al finalizar el experimento se evaluaron variables biométricas de la planta: biomasa aérea (g), biomasa radicular (g), en el suelo se determinó la concentración de mercurio en él (absorción atómica) y la presencia de *P. putida* (medio King B). El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 3^1 (tres repeticiones por tratamiento). Se llevó a cabo un ANOVA con un nivel de significancia de $p < 0,5$ y se hizo una prueba de diferencia de medias por Duncan en el software *StatgraphicsCenturion*.

Resultados:

La tabla 1 muestra los resultados del análisis físicoquímico del suelo contaminado con mercurio. Los rangos normales presentados en el análisis hacen referencia a los niveles adecuados para cultivo de leguminosas según el laboratorio Biofertilizar SAS. Los términos bajo (B), medio (M) y alto (A), hacen referencia a las condiciones en las que se encuentra el parámetro estudiado del suelo. Los resultados evidencian que parámetros como el pH del suelo se encuentran por debajo del rango recomendado para un suelo en buenas condiciones para el crecimiento de plantas y entra en el grupo de suelos ácidos (Jaramillo, 2002). El pH tiene efecto directo

sobre la disponibilidad de todos los nutrientes de la planta; un suelo ácido puede significar una disponibilidad muy baja de fósforo (P) (Jaramillo, 2002), lo que coincide con los resultados bajos de fósforo encontrados en el análisis fisicoquímico. En general, cuando las plantas tienen deficiencia de P, son pequeñas, sus raíces son cortas y gruesas, se presenta disminución en la floración y hay un bajo rendimiento (Bernal et al, 2007). Además, en suelos ácidos con pH menor a 5,5, actúan las formas de aluminio intercambiable (Jaramillo, 2002), coincidiendo con el resultado de Aluminio (Al) en el suelo, el cual fue alto. El exceso de Al en los suelos inhibe la absorción de Ca^{2+} y Mg^{2+} , y reduce el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Casierra & Aguilar, 2018).

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del suelo.

Parámetro	Resultado	Unidad	Normal	Interpretación	Método
Arena	44	%	20-70	M	Bouyoucos
Limo	34	%	30-50	M	Bouyoucos
Arcilla	22	%	10-25	M	Bouyoucos
Clase	Franco	-	Franca	-	Triángulo textural
pH	4,9	-	5,5-6,0	B	1:2, agua, pH metro
CE	0,03	dS/m	1-2	B	Pasta saturada
MO	8,5	%	5-10	M	Ignición
P	3	mg/Kg	15-30	B	Bray II
P soluble	0,006	mg/L	0,1-0,2	B	0,01 M CaCl_2
S	54	mg/kg	6-12	A	0,008 _M $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
Al	1,1	cmol(+)/kg	<1	A	1 M KCl
Ca	0,5	cmol(+)/kg	3-6	B	1M Acetato NH_4
Mg	0,8	cmol(+)/kg	1,5-2,5	B	1M Acetato NH_4
K	0,02	cmol(+)/kg	0,15-2,5	B	1M Acetato NH_4
Fe	81	mg/kg	25-50	A	Olsen-EDTA
Mn	9	mg/kg	5-10	M	Olsen-EDTA
Cu	5	mg/kg	3-5	M	Olsen-EDTA
Zn	3	mg/kg	3-5	B	Olsen-EDTA
B	0,16	mg/kg	0,5-1,0	B	Agua caliente

Los términos bajo (B), medio (M) y alto (A), hacen referencia a las condiciones en las que se encuentra el parámetro estudiado del suelo.

Por otro lado, el análisis de mercurio realizado al suelo por medio del método de Absorción Atómica, dio como resultado una concentración de 59.903 ppm.

El análisis estadístico de las variables biomasa seca total y *Pseudomonas putida* en las raíces arrojaron un valor $P < 0,05$, por lo tanto, se afirma que estas variables tuvieron una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

Las plantas de maíz lograron crecer en el suelo contaminado con Hg (Figura 1). Los tratamientos presentaron un efecto significativo en la biomasa total de las plantas con respecto al control (1,47 g), con excepción de la inoculación de *P. putida* (2,04 g). Esto indica que el tratamiento de *P. putida* por sí sola no es capaz de mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz en un suelo con estas condiciones y es indiferente si se agrega o no esta bacteria al suelo contaminado. El tratamiento que presenta mejor desarrollo estadísticamente significativo de las plantas en presencia de Hg, es la inoculación de *P. putida* con la adición de materia orgánica (6,35 g).

En la figura 2, se evidencia que la materia orgánica puede influenciar en la reproducción de la *P. putida*, dado que su concentración en el tratamiento de materia orgánica y *P. putida* se duplicó ($2,03 \times 10^6$ UFC/g) respecto al tratamiento de *P. putida* ($1,10 \times 10^6$ UFC/g).

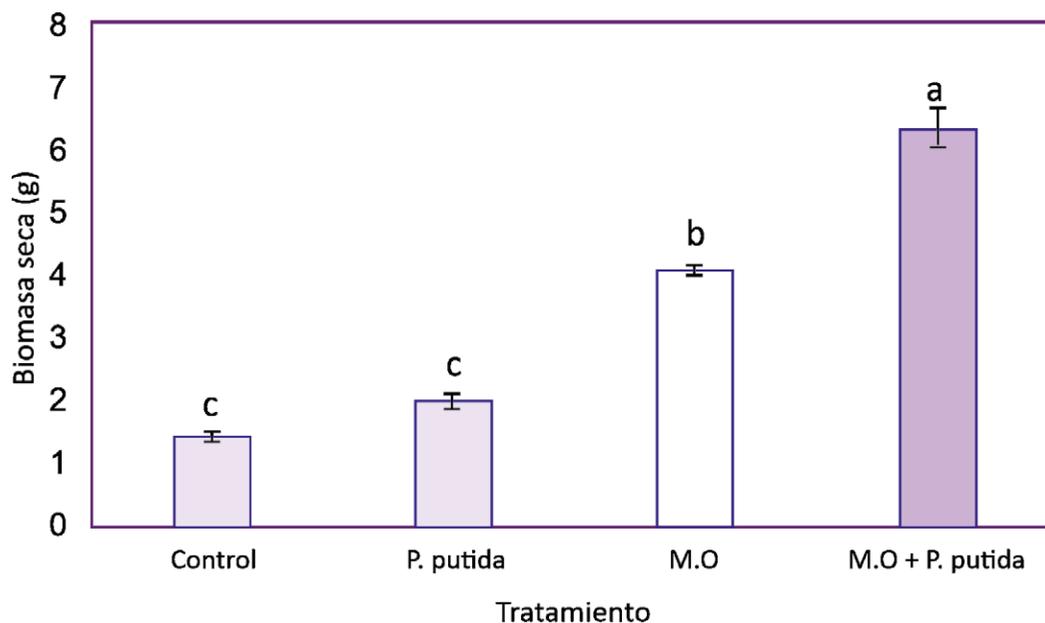


Figura 1. Biomasa seca total (g) de maíz en suelo contaminado con Hg, 90 días de crecimiento, en invernadero. Cada columna es el promedio de 3 unidades experimentales. Las barras de error corresponden a la desviación estándar, letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa.

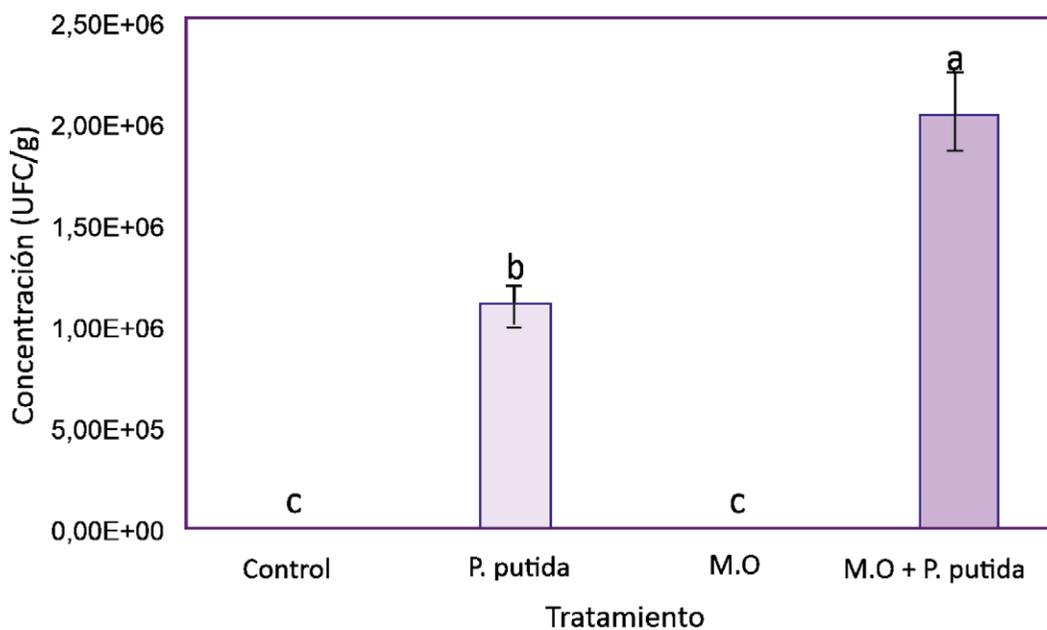


Figura 2. Colonización de *Pseudomonas putida* (UFC/g) en el suelo con plantas de maíz en suelo contaminado con Hg, 90 días de crecimiento, en invernadero. Cada columna es el promedio de 3 unidades experimentales. Las barras de error corresponden a la desviación estándar, letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa.

Conclusiones:

- El suelo contaminado con mercurio producto de las actividades mineras en el municipio de Cáceres, Antioquia, mostraba unas condiciones físicas y químicas significativamente alteradas.
- La adición de *Pseudomonas* como único tratamiento no promueve el crecimiento de las plantas de maíz en suelo contaminados con Hg, mientras que la materia orgánica sí lo hace.
- La adición de materia orgánica y *Pseudomonas putida* juntas promueve significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz en suelos contaminados con Hg. Este tratamiento presenta los mejores resultados biométricos de las plantas.
- La biorremediación con plantas, microorganismos y materia orgánica es una estrategia que permite reducir los contaminantes como el Hg del suelo sin tener efectos adversos en el ambiente, recuperando el ecosistema y con bajos costos.

Bibliografía

- Grande, C., & Orozco, B. (2013). Producción y procesamiento del maíz. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 11(1), 97–110.
- Guacho-Abarca, E. F. (2014) *Caracterización agro-morfológica del maíz (Zea mays L.) de la localidad San José de Chazo* [Trabajo de grado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo <https://core.ac.uk/download/pdf/234574936.pdf>
- Martínez, J. A. & Casallas, M. R. (2018). *Contaminación y remediación de suelos en Colombia: Aplicación a la minería de Oro*. Universidad EAN.