

Ricinus communis L., Y *Pseudomonas* sp. PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE MINA

Ricinus communis AND *Pseudomonas* sp. USED FOR THE REMEDIATION OF POLLUTED SOILS WITH MINE RESIDUES

Ruiz-Olivares A.¹, González-Chávez M.C.A.^{1*}, Carrillo-González R.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5. Carretera México-Texcoco, Texcoco, Estado de México 56230.

*Autor de correspondencia: carmeng@colpos.mx

RESUMEN

Existe poca información del uso de microorganismos asociados a plantas para remediar suelos contaminados con residuos de mina, los cuales contienen elementos potencialmente tóxicos (EPT). En los estudios actuales se utilizan soluciones hidropónicas o suelos artificialmente contaminados. El presente trabajo consideró la mezcla de residuos de mina con suelo (0%, 33%, 66% y 100%) y la inoculación con *Pseudomonas* sp. y uso de *Ricinus communis*. Se determinó la tolerancia de esta bacteria a diferentes concentraciones de Cu, Zn, Cd y Pb, y la capacidad para formar emulsiones (E_{24}), parámetro indicador de la presencia de biosurfactantes. Además, se analizó el efecto de la inoculación en el crecimiento de *R. communis*. La bacteria fue tolerante a las concentraciones de los EPT bajo estudio. Solo Zn en 9 mM inhibió significativamente su crecimiento. Todas las concentraciones de Cu y Zn inhibieron la E_{24} . Solo en la menor concentración de Cd (0.05 mM) se observó capacidad emulsificante. El Pb indujo la E_{24} a los seis días de incubación. El efecto benéfico de la inoculación de *R. communis* con *Pseudomonas* sp. en biomasa aérea fue significativo a 0% y 33% de residuo de mina: suelo. No se observó modificación en la acumulación en la parte aérea de los EPT por influencia de la inoculación. Por la capacidad de *R. communis* y la tolerancia a EPT de *Pseudomonas* sp. se plantea su posible uso en la remediación.

Palabras clave: remediación asistida con bacterias, biosurfactantes, metales pesados.

ABSTRACT

There is scarce information about the use of microorganisms associated to plants to remediate polluted soils with mine residues, which contain potentially toxic elements (PTE). In the current studies, hydroponic solutions or artificially contaminated soils have been used. This study considered the mixture of mine residues with soil (0%, 33%, 66% and 100%), the inoculation with *Pseudomonas* sp. and use of *Ricinus communis*. The tolerance of this bacteria to different concentrations of Cu, Zn, Cd and Pb was determined, and the capacity to form emulsions (E_{24}), parameter that is indicator of the presence of biosurfactants. In addition, the effect of the inoculation on the growth of *R. communis* was analyzed. *Pseudomonas* was tolerant to the concentrations of the PTE under study. Only Zn in 9 mM inhibited significantly its growth. All the concentrations of Cu and Zn inhibited the E_{24} . Only in the lowest concentration of Cd (0.05 mM) the emulsifying capacity was observed. Pb induced the E_{24} at six days of incubation. The beneficial effect of the inoculation of *R. communis* with *Pseudomonas* sp., in aerial biomass was significant at 0% and 33% of mine:soil residue. No modification

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 4, abril. 2017. pp: 48-56.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** marzo, 2017.

was observed in PTE aerial accumulation by inoculation effect. Because of the capacity of *R. communis* and the tolerance to PTEs of *Pseudomonas* sp. their possible use in remediation is suggested.

Keywords: bacteria aided remediation, biosurfactants, heavy metals.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo por elementos potencialmente tóxicos (EPT) es una preocupación actual a nivel mundial. Las principales fuentes de introducción al ambiente son la minería, industria y agricultura (Dudka y Adriano, 1997). Debido al incremento en la demanda de materia prima, la actividad minera ha crecido a un ritmo acelerado en los últimos años. Esto conlleva el aumento en la cantidad de los residuos generados, así como el incremento de sitios de depósito. Además, debido al escaso o nulo manejo que se les da, incrementan el riesgo ambiental. Los residuos de mina contienen altas concentraciones de EPT, pobre contenido de nutrientes y materia orgánica, alta conductividad eléctrica; así como baja capacidad de retención de humedad (Wong, 2003). Además, pueden dispersarse por el viento y el agua (Puga *et al.*, 2006), oxidarse y reducir su pH, lo que puede aumentar la biodisponibilidad de los EPT (Akciil y Koldas 2006). Debido a estas características, pocos organismos pueden colonizar los sitios contaminados con desechos de mina (González-Chávez, 2005), generando áreas improductivas. La introducción de plantas a sitios contaminados con residuos de mina a través de la fitoestabilización es una alternativa que ha sido propuesta por varios autores para prevenir la dispersión de EPT y disminuir su riesgo de toxicidad. Esta es una opción práctica, de bajo costo y aplicable *in situ* (Vangrosveld, 1993). Una especie vegetal con potencial para su uso en fitorremediación es *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), la cual además de registrar uso como bioenergético, algunas investigaciones muestran su potencial en la fitorremediación de sitios contaminados con EPT (Rajkumar y Freitas, 2008). Se ha sugerido que, además de ser una planta prospecto para la remediación, podría aprovecharse para producir aceite en suelos contaminados con residuos de mina (Ruiz-Olivares *et al.*, 2013). Estos autores reportaron que plantas de *R. communis* naturalmente establecidas en residuos de mina produjeron semilla con alto contenido de aceite (40%-64%), y las plantas se comportaron como excluidoras de EPT, es decir, no acumularon altas concentraciones de los contaminantes en su follaje. De igual manera, su aceite y la torta resultante del desecho de la semilla a la cual se le extrajo el aceite no tuvieron altas concentraciones de EPT. El aceite tuvo mayor contenido de ácido linoleico, uno de los más deseables para incrementar su calidad como biocombustible, por lo que el aceite y sus bioproductos (torta y biomasa) son productos de la planta, candidatos factibles de usarse biotecnológicamente; además de biocombustible como fertilizantes, mejorador de suelo o participar en el secuestro de carbono (González-Chávez *et al.*, 2015). Aunque algunas plantas son capaces de crecer en diversos sitios contaminados, estabilizar los EPT en el área de su rizósfera y llegar a la fructificación no siempre es fácil (Barceló y Poschenrieder, 2003). Existen ciertas condiciones biológicas y químicas poco entendidas para que plantas tolerantes logren en la práctica establecerse en un residuo de mina. Por tanto, al-

gunos autores han sugerido utilizar microorganismos benéficos, tales como bacterias y hongos asociados a las raíces de las plantas para remediar un sitio contaminado (González-Chávez, 2005). Las bacterias pueden contribuir al crecimiento de una planta a través de la producción de ácido indol acético y giberélico para promover su crecimiento (Patten y Glick, 2002), también a través de la producción de biosurfactantes o emulsificantes, sustancias que pueden enlazarse a EPT y modificar su disponibilidad (Deleu y Paquot, 2004; Pacwa-Plociniczak *et al.*, 2011). El objetivo de la presente investigación fue determinar la tolerancia *in vitro* de *Pseudomonas* sp., aislada de un residuo de mina a diferentes concentraciones de EPT, determinando *in vitro* su producción de surfactantes en presencia de diferentes concentraciones de EPT, así como, evaluar en condiciones de invernadero, el efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sp. en el crecimiento de *R. communis* y la acumulación de EPT al crecer en tres niveles de adición de residuo de mina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tolerancia y capacidad emulsificadora de *Pseudomonas* sp. a EPT

Se estudió *in vitro* la tolerancia de *Pseudomonas* sp. a cuatro concentraciones de Cd (0, 0.5, 1.0 y 1.5 mM), de Pb (0, 1.0, 2.5 y 4.0 mM), de Cu (0, 2, 4 y 6 mM) y de Zn (0, 3.0, 6.0 y 9.0 mM). Se utilizaron sales de sulfato de todos los EPT estudiados y el pH se ajustó en todos los casos a 5.8. Las condiciones de incubación fueron 30 °C y 150 rpm. Diariamente se cuantificó la biomasa bacteriana a través de la absorbancia con un espectrofotómetro UV-Visible Cary Varian 50. Se establecieron tres repeticiones por

tratamiento, teniendo un total de 42 tubos como unidades experimentales. Los tubos se centrifugaron a 8000 rpm durante ocho minutos. El líquido sobrenadante, medio libre de células, se utilizó para determinar la capacidad de emulsión de *Pseudomonas* sp., influenciadas por las diferentes concentraciones de EPT. La formación de emulsiones se cuantificó por el método E₂₄ (Cooper y Goldenber, 1987).

Efecto de la asociación de *Pseudomonas* sp. con *Ricinus communis*

El residuo de mina se colectó en Zimapán, Hidalgo, México, en el depósito Santa María. El suelo agrícola se colectó en el Colegio de Postgraduados en Texcoco, Estado de México. Ambos materiales por separado se secaron a la sombra y tamizaron a través de una malla de 2 mm de apertura. Se prepararon las dos mezclas de crecimiento y el residuo de mina (33% y 66% m/m). Se establecieron dos tratamientos adicionales con 0% de residuo (solo suelo agrícola) y solo residuo de mina (100%). Los sustratos de crecimiento se colocaron en bolsas de plástico negro de 10 cm de diámetro por 60 cm de largo; estas se regaron a 80% de la capacidad de campo con agua destilada y se incubaron para el equilibrio de los EPT durante dos semanas. Transcurrido este tiempo se tomaron muestras de cada unidad experimental para su caracterización física y química. El pH se midió con un potenciómetro Orion Research 601 y la conductividad eléctrica (CE) con un puente de conductividad YSI 31. La materia orgánica (MO) se cuantificó por el método de pérdida por incineración (Dean, 1974). Se determinó la concentración total de EPT por el método EPA 3050B (EPA 1996) y la concentración extractable de EPT (DTPA-extractable; Lindsay y Norvel, 1978). Las semillas de *R. communis* se recolectaron de la mina Santa María en Zimapán, Hidalgo, se lavaron con agua potable y enjuagaron con agua destilada. Se sembraron tres semillas por unidad experimental y después de que emergieron se dejó una plántula por bolsa. La inoculación bacteriana se llevó a cabo 20 días después de la siembra, cuando 50% de las plantas presentaron la primera hoja verdadera. El inóculo consistió en una suspensión bacteriana con absorbancia de 0.5 a 600 nm. Los tratamientos inoculados recibieron 10 mL de la suspensión bacteriana y los no inoculados, 10 mL de agua destilada estéril. Después de la inoculación, semanalmente se midió la altura de las plantas. Al final del experimento (175 días) se cuantificó la biomasa seca aérea y de raíz; además, se determinó el volumen radicular por desplazamiento de volumen y se midió el área

foliar. Los datos obtenidos se analizaron con el software SAS System v. 9.0, con un modelo lineal general, prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) y correlaciones de Pearson ($\alpha=0.05$). Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) con una matriz de correlación. Para ello se usó PC-ORD v. 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia y capacidad emulsificante de *Pseudomonas* sp. a diferentes EPT

Pseudomonas sp. mostró tolerancia a altas concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn (Figura 1). Solamente bajo el efecto de Zn 9 mM se obtuvo una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Nasrazadani *et al.* (2011) encontraron CMI de 0.5 mM para Cd y Cu, y de 6 mM para Zn para cepas bacterianas de *Pseudomonas* sp. aisladas de aguas residuales y el efluente de una procesadora. Pb es un elemento que causa muerte celular. No obstante, *Pseudomonas* sp. aislada de un sitio severamente contaminado con Pb mostró mayor biomasa que en los testigos en los últimos dos días de la cinética (Figura 1). La E₂₄ se afectó negativamente por los EPT estudiados. Cu y Zn inhibieron la actividad emulsificante (datos no mostrados). En los tratamientos con Pb (Figura 2) el E₂₄ aumentó constantemente y en el día seis éste fue superior al testigo ($\alpha=0.05$). Se registró correlación positiva entre la concentración de Pb y el E₂₄ ($r=0.7811$, $P=0.002$). En el caso de Cd, solo en la concentración de 0.5 mM se observó actividad emulsificante, pero ésta disminuyó paulatinamente del día 3 al 5 para finalmente inhibirse al día 6.

Efecto de la asociación de *Pseudomonas* sp. con *Ricinus communis*

El pH y la CE se registraron en intervalos apropiados para el desarrollo de las plantas en todas las mezclas de crecimiento (Richards 1973; Cuadro 1). Sin embargo, la MO fue menor en el residuo de mina (a 100%) que en el resto de los tratamientos. Las demás mezclas tuvieron contenido alto de MO de acuerdo con la NOM-021-SEMAR-NAT-2000. Cabe mencionar que con el método utilizado (LOI), el contenido de carbonatos en la mezcla puede sobrestimar la cantidad de MO presente.

La capacidad de campo de las mezclas disminuyó en relación con el contenido adicionado del residuo. El contenido de MO y la baja capacidad de campo pueden limitar el establecimiento y el crecimiento de las plantas de *R. communis* al formar un sustrato no apto para su desarrollo.

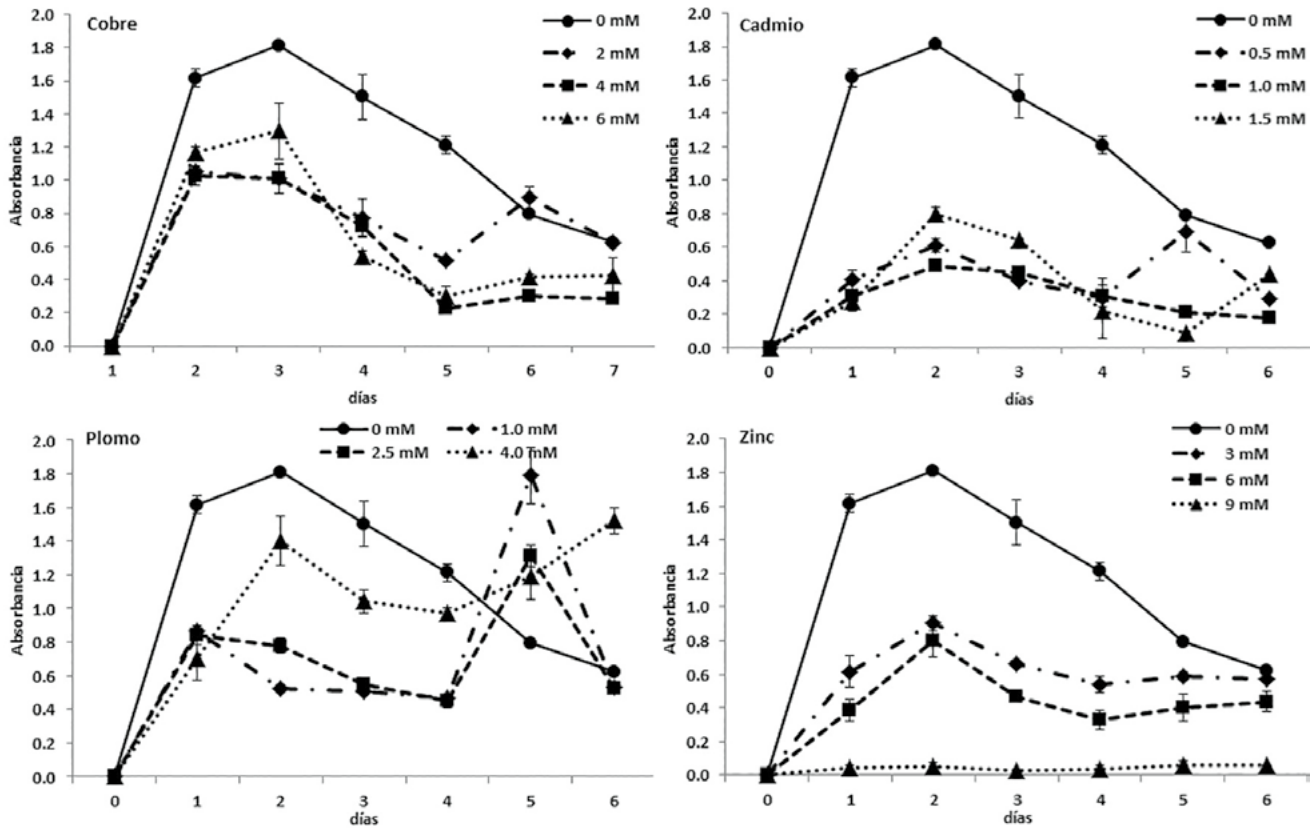


Figura 1. Cinética de crecimiento de *Pseudomonas* sp. en diferentes concentraciones de cuatro elementos potencialmente tóxicos. Se presenta el valor promedio y la desviación estándar, n=3.

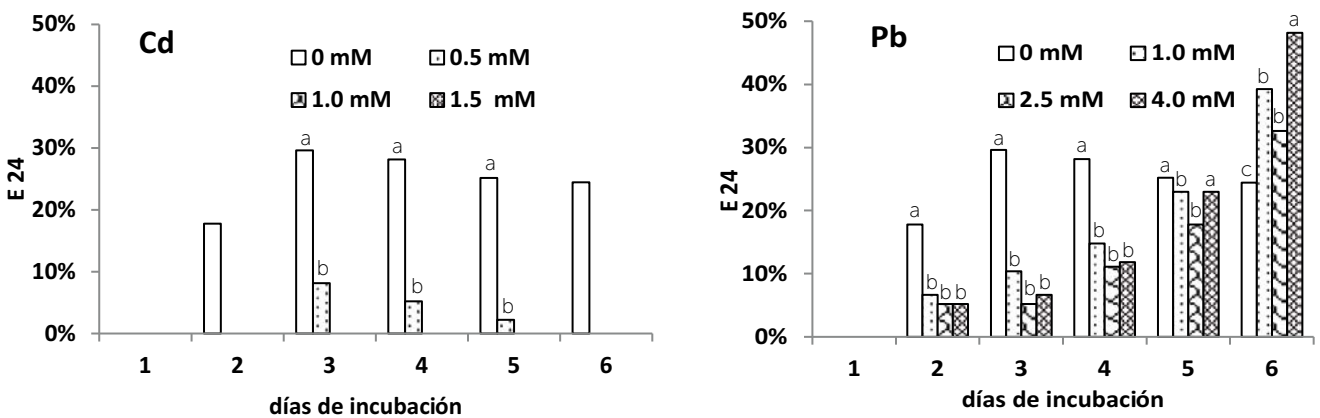


Figura 2. Cinética de la capacidad emulsificante (E₂₄) de *Pseudomonas* sp. en presencia de diferentes concentraciones de cadmio y plomo. Se presentan los promedios, n=3. Letras similares muestran que no hay diferencia significativa entre tratamientos con respecto al día de incubación de acuerdo a Tukey ($\alpha=0.05$).

La concentración total de EPT en los sustratos de crecimiento para *R. communis* se resume en el Cuadro 2. Según las concentraciones sugeridas por el Consejo Canadiense de Ministerios del Ambiente, Cd, Cu, Pb y Zn sobrepasaron el límite sugerido en el tratamiento 100% de residuo. Cd, Pb y Zn excedieron dicho límite

en la mezcla 66% de residuo. Según la normativa mexicana, solamente Pb y Zn estuvieron en una concentración en la que se recomienda proceder a la remediación a partir de la mezcla 33% residuo. Los EPT se encuentran en altas concentraciones extractables en las mezclas con residuo de mina (hasta 6.81 y

1.02 mg kg⁻¹ para Cu y Cd, respectivamente en el tratamiento 100% de residuo). Todos los EPT, excepto Ni, aumentaron su concentración extractable en relación con el contenido de residuo en las mezclas de crecimiento. A partir de la mezcla 33%, Cu y Zn sobrepasaron el límite de fitotoxicidad (Cuadro 2). Zn fue el

Cuadro 1. pH, CE (conductividad eléctrica), MO (materia orgánica), CC (capacidad de campo) en las mezclas de crecimiento para establecer *Ricinus communis* asociado a *Pseudomonas* sp.

Mezcla (% residuo minero)	pH	CE ($\mu\text{mhos cm}^{-1}$)	MO (%)	CC (%)
0	7.37 ± 0.17	329 ± 162	4.39 ± 0.44	45.7 ± 1.4
33	6.57 ± 0.21	1077 ± 287	3.92 ± 0.25	39.7 ± 1.4
66	6.34 ± 0.20	1317 ± 180	3.29 ± 0.29	32.7 ± 1.9
100	6.23 ± 0.18	845 ± 33	1.83 ± 0.50	29.7 ± 1.3

Se presentan los valores promedios y desviación estándar, n=3.

elemento que presentó mayor concentración extractable en todas las mezclas, seguido por Pb, Cu y Mn. Cabe mencionar que la legislación mexicana en las normas no considera la fracción extractable de los EPT.

Cinética de crecimiento de *R. communis* inoculada con *Pseudomonas* sp.

Se observó efecto negativo del residuo a partir del día 14 de la inoculación (Figura 3). La altura de las plantas establecidas en las mezclas con residuo de mina fue estadísticamente menor ($\alpha=0.05$) que en el tratamiento testigo. Este efecto fue mayor al final del experimento y aumentó en relación con la cantidad de residuo de mina en las mezclas. Rodríguez-Elizalde *et al.* (2009) obtuvieron resultados similares. Los residuos de minas limitaron la emergencia y el crecimiento de tres especies ornamentales. Mathiyazhagan y Natarajan (2012) observaron que principalmente Cd limitó el crecimiento de *R. communis*. La influencia positiva de la inoculación se observó a partir del día 126 en la mezcla 33%

residuo de mina limitó la asociación con *Pseudomonas* sp., o disminuyó la capacidad de esta cepa bacteriana como promotora del crecimiento vegetal. La biomasa, volumen radical y área foliar fueron inversamente proporcionales a la cantidad de residuo en las mezclas de crecimiento (Cuadro 3). La biomasa aérea de las plantas establecidas con 100% de residuo fue significativamente menor ($\alpha=0.05$) que en los tratamientos sin residuo. El área foliar de las plantas establecidas en los tratamientos 100% residuo inoculados y no inoculados fue 85 y 118 veces menor que el tratamiento testigo inoculado y no inoculado, respectivamente. Se observaron correlaciones negativas entre la concentración extractable de EPT y las variables de respuesta: Cu y la altura final ($r=-0.95$), Zn y biomasa radical ($r=-0.91$), Zn y biomasa aérea ($r=-0.95$); así como Cu y área foliar ($r=-0.96$). Se observó efecto positivo de la inoculación en la biomasa aérea para 0% y 33% de residuo, así como de la biomasa de raíz con 0% residuo. Rajkumar y Freitas (2008) evaluaron la asociación de *R. communis* con *P. jessenii* y

Cuadro 2. Concentración total y extractable de EPT (mg kg^{-1}) en las diferentes mezclas de crecimiento para establecer *Ricinus communis*.

% Residuo de mina	Concentración total (mg kg^{-1})					
	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
0	6.9±1.6	9.6±3.2	189.1±45.1	19.3±3.8	124.9±6.5	222.2±59.2
33	13.9±3.0	36.8±3.9	334.1±26.3	25±4.6	738±97.8	1070.6±173.3
66	24.2±4.1	72.4±5.1	468±66.0	32.8±6.5	1166.4±147.9	2031.8±172.4
100	31.6±1.4	102.2±1.0	632±63.9	42.8±5.4	1597±146.3	2864.7±390.8
CEQC [†]	22	91		50	600	360
SEMARNAT/SSA [‡]	37			1600	400	
Concentración DTPA-extractable (mg kg^{-1})						
0	0.06±0.02	0.29±0.1	1.44±0.3	0.96±0.2	2.6±0.5	1.44±0.5
33	0.49±0.06	2.79±0.3	1.68±0.1	2.12±0.2	8.39±0.7	13.6±2.5
66	0.72±0.05	6.36±0.4	2.8±0.4	1.06±0.1	14.48±1.0	20.1±1.7
100	1.02±0.07	6.81±0.2	3.46±0.1	0.88±0.2	24.38±2.2	25.9±2.1
Fitotoxicidad [§]		>2.5	>50			>6.0

[†]CEQC=Guías Canadienses de calidad ambiental 2003 para suelos industriales. [‡]SEMARNAT/SSA (2004, NOM-147) establece las concentraciones totales para suelo de uso agrícola, residencial o comercial y sugiere proceder a la remediación, [§]Limite de fitotoxicidad de acuerdo con Ankerman y Large (1978). Se presentan los valores promedio y desviación estándar, n=3.

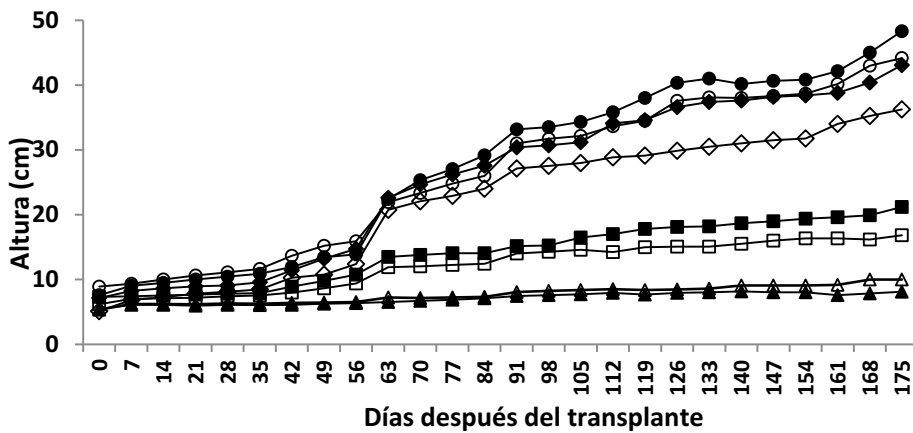


Figura 3. Cinética de crecimiento de *Ricinus communis* inoculado con *Pseudomonas* sp. en cuatro sustratos de crecimiento. Símbolos llenos indican tratamientos inoculados, símbolos vacíos tratamientos no inoculados.

▲ △ 100 %; ■ □ 66 %; ◆ ◇ 33 %; ● ○ 0 % de residuo de mina.

Pseudomonas sp. en un suelo contaminado artificialmente con Cu, Ni y Zn, y observaron con ambas cepas incremento en biomasa aérea y de raíz en *R. communis*.

De igual manera, Ma et al. (2009) observaron que *Acromobacter xylosoxidans* aumentó la biomasa aérea y radical e incrementó la longitud radical de *Brassica juncea*. Petrisor et al. (2004) mostraron que la inoculación con *Bacillus megaterium* combinada con *Azotobacter chroococcum* y la adición de lodos residuales contribuyeron positivamente a la supervivencia y desarrollo de varias especies de plantas en residuos de mina.

El tratamiento 100% residuo de mina no permitió la expresión del efecto benéfico de la inoculación con *Pseudomonas* sp. Por tanto, es necesario disminuir las elevadas concentraciones disponibles de EPT con adición de enmiendas o algún otro tratamiento agronómico para favorecer el crecimiento de *R. communis* en la remediación de los sitios contaminados con estos residuos de mina. La acumulación de EPT en la parte aérea de *R. communis*

se relacionó directamente con la concentración de estos elementos disponibles en el sustrato (Figura 4). Se encontraron concentraciones tóxicas para Ni (tratamiento 100% de residuo), Pb (33%, 66% y 100% de residuo minero) y Zn (66 y 100% de residuo de mina); sin embargo, las plantas no mostraron síntomas de fitotoxicidad y las concentraciones absorbidas no fueron suficientes para considerar a *R. communis* como una planta acumuladora (>1,000 mg kg⁻¹ Pb en tejidos de la parte aérea; van der Ent et al., 2013). Ruiz-Olivares et al. (2013) en plantas creciendo naturalmente en campo caracterizaron a esta especie como no acumuladora. Otros investigadores reportan a *R. communis* como acumuladora (Romeiro et al., 2006); sin embargo, es difícil hacer comparación porque los estudios fueron conducidos bajo condiciones de hidroponía y no en campo, y en sustratos artificialmente contaminados. Las mezclas de crecimiento utilizadas en la presente investigación tratan de abordar las condiciones reales de los residuos de mina y corroboran lo observado por Ruiz-Olivares et al. (2013) y González-Chávez et al. (2015), considerando que *R. communis* no es especie

Cuadro 3. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sp. y proporción de residuos mineros en el crecimiento de *Ricinus communis*.

% Residuo de mina / Inoculación		Altura final (cm)	Biomasa aérea (g)	Área foliar (cm ²)	Biomasa radical (g)	Volumen radical (cm ³)
100	+	8.1±2.7	0.11±0.05	8.7±0.0	0.14±0.03	2.05±0.0
	-	10±2.7	0.19±0.07	6.0±2.6	0.14±0.04	2.6±0.6
66	+	21.2±0.8	0.44±0.1	53.4±13.2	0.29±0.1	2.8±1.0
	-	16.8±1.3	0.51±0.1	43.7±13.9	0.31±0.1	4.1±1.4
33	+	43.1±1.6	4.74±0.1	397.9±35.2	2.17±0.4	19.5±5.1
	-	36.2±2.8	3.26±0.8	390.7±91.5	1.36±0.8	18.0±4.9
0	+	48.3±1.2	13.6±1.3	736.6±131.6	7.95±0.5	30.8±2.9
	-	44.2±1.2	10.8±1.2	711.3±93.3	5.34±0.9	28.0±4.7
DHS			1.36	201.23	0.94	10.24

Se presentan promedios y desviación estándar, n=3. DMS=diferencia honesta significativa, Tukey (α=0.05).

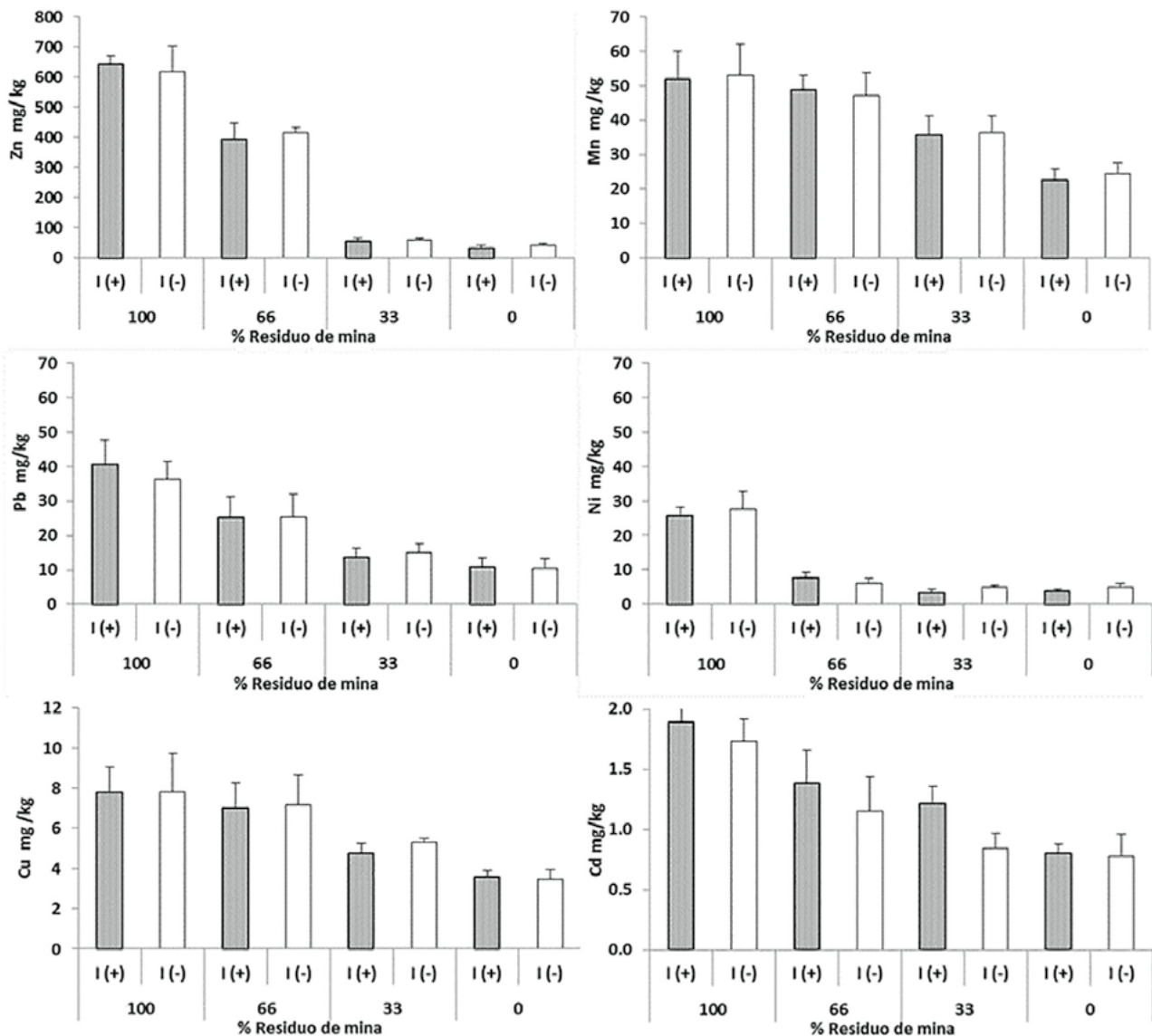


Figura 4. Concentración de metales en la parte aérea de *Ricinus communis* por influencia de la inoculación con *Pseudomonas* sp. y cuatro niveles de residuos de mina en el sustrato de crecimiento. Se muestran promedio y desviación estándar, n=3.

acumuladora de EPT. La inoculación con *Pseudomonas* sp. no influyó en las concentraciones de EPT en la biomasa aérea en ninguna de las mezclas de crecimiento. Esto es una ventaja, pues los productos derivados de esta planta pueden aprovecharse sin el riesgo que conllevan altas concentraciones de EPT. En contraste, algunos autores han observado que la inoculación bacteriana aumenta la acumulación de diferentes EPT en los tejidos de varias plantas estudiadas (Abou-Shanab et al., 2006, Rajkumar y Freitas, 2008).

El análisis de componentes principales explicó 89.75 % (p<0.0001) de la varianza de los datos en dos componentes (Figura 5). En el primero de ellos se observó una relación negativa entre la altura final de las plantas de *R. communis* con la concentración de los EPT

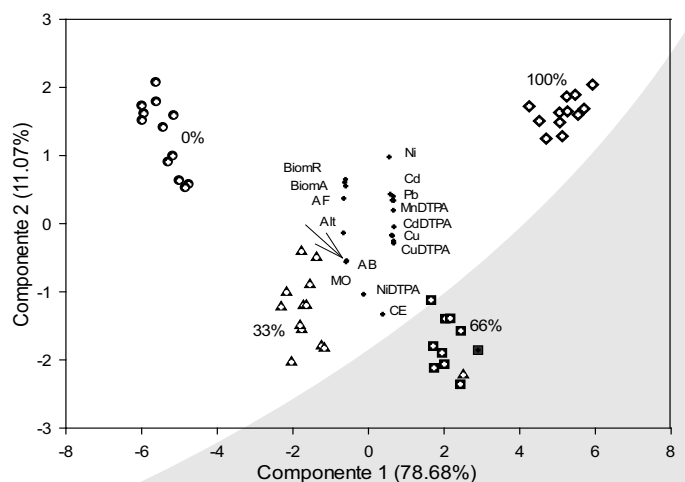


Figura 5. Biplot de componentes principales. BiomR=Biomasa radical, BiomA=Biomasa aérea, Alt=Altura, MO=Materia orgánica, AF=Área foliar. AB=Actividad bacteriana.

extractables, así como con la de éstos acumulados en hojas. De la misma forma, la acumulación de estos elementos en las hojas se relacionó positivamente con la concentración extractable en el suelo. La proporción de residuo en las mezclas generó grupos bien diferenciados entre ellos. Esto hace notar la influencia del residuo en la acumulación de EPT y en el crecimiento de las plantas. Asimismo, se observa la estrecha relación de la actividad bacteriana y la materia orgánica (señalada por la flecha). Además, se observa claramente la relación entre unidades experimentales que pertenecen a los mismos porcentajes de residuo de mina.

CONCLUSIONES

P*seudomonas* sp. es una bacteria tolerante a altas concentraciones de varios EPT (Cu, Cd, Zn y Pb). Solo a la mayor concentración de Zn (9 mM) disminuyó significativamente su crecimiento. Su capacidad emulsificadora, medida a través de E_{24} , se inhibió por la presencia de diferentes concentraciones de Cu y Zn. Solo con la menor concentración de Cd (0.5 mM) se observó E_{24} ; sin embargo, ésta fue un tercio menor a la E_{24} de las bacterias sin adición de metal. En contraste, la adición de Pb incrementó la E_{24} en todas las concentraciones probadas. Esta propiedad es relevante para modificar la disponibilidad de EPT. La inoculación de *R. communis* con *Pseudomonas* sp. puede ser de utilidad para promover el desarrollo de la planta sin incrementar la acumulación de EPT al establecerse en residuos de mina. Sin embargo, se requiere el manejo agronómico que favorezca el mayor y más rápido crecimiento de esta planta en

condiciones de alta contaminación. *R. communis* acumula baja concentración de los diferentes EPT en sus tejidos, lo que brinda una importante oportunidad que debe probarse para utilizarla en revegetar sitios con residuos de mina.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto PDCAPN-2013-215241.

LITERATURA CITADA

- Abou-Shanab R.A.I., Angleb J.S., Chaney R.L. 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2882-2889.
- Akcil A., Koldas S. 2006. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production.* 14: 1139-1145.
- Ankerman D., Large R. 1978. Soil and Plant Analysis. A & L. Agricultural laboratories, In: Barceló J., Poschenrieder C. 2003. Memphis, Tennessee. Technical Report. 82 p. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contribution to Science* 2: 333-344.
- Cooper D.G., Goldenberg B.G. 1987. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology.* 53: 224-229.
- Dean W.E. 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology.* 44: 242-248.
- Deleu M., Paquot M. 2004. From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants. *Comptes Rendus Chimie* 7: 641-646.
- Dudka S., Adriano D.C. 1997. Environmental impacts of metal ore mining processing: a review. *Journal of Environmental Quality.* 26: 590-602.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). 1996. Method 3050B. Acid digestion of sediments, sludges and soils. 12p.
- González-Chávez M.C.A. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosférico. *Terra Latinoamericana* 23: 29-37.
- González-Chávez M.C.A., Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., Rios-Leal E. 2015. Crude oil and bioproducts of castor bean (*Ricinus communis* L.) plants established naturally on metal mine tailings. *International Journal of Environmental Science and Technology.* 12: 2263-2272.
- Lindsay W.L., Norvel W.A. 1978. Development of a DTPA test from soil zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal.* 42: 421-428.
- Ma Y., Rajkumar M., Freitas H. 2009. Inoculation of plant growth promoting bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax 10 for the improvement of copper Phytoextraction by *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Management.* 90, 831-837.
- Mathiyazhagan N., Natarajan D. 2012. Impact of mine waste dumps on growth and biomass of economically important crops. *Journal of Environmental Biology.* 33: 1069-1074.
- NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.
- Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Singh C.S. 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International Journal of Molecular Sciences.* 12: 633-654.
- Patten C.L., Glick. B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology.* 68: 3795-3801.
- Petrisor I.G., Dobrota S., Komnitsas K., Lazar I., Kuperberg J.M., Serban M. 2004. Artificial inoculation-perspectives in tailings Phytostabilization. *International Journal of Phytoremediation.* 1:1-15.
- Puga S., Sosa M., Lebgue T., Quintana C., Campos A. 2006. Contaminación por metales pesados en el suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada* 5: 149-155.
- Rajkumar M., Freitas H. 2008. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* 71:34-842.
- Richards L.A. 1973. Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. (6° ed). United States Department of Agriculture. Limusa, México D.F. 172 p.

- Rodríguez-Elizalde M.A., Delgado-Alvarado A., González-Chávez M.C.A., Carrillo-González R., Mejía-Muñoz J.M., Vargas-Hernández M. 2009. Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. *Interciencia* 1: 26-32.
- Romeiro S., Lagôa A.M.M.A, Furliani P.R., de Abreu C.A., de Abreu M.F., Erismann N.M. 2006. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18, 483-489.
- Ruiz-Olivares A., Carrillo-González R., González-Chávez M.C.A., Soto-Hernández R.M. 2013. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. *Journal of Environmental Management*. 15: 316-323.
- SEMARNAT/SSA. 2004. NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Norma Oficial Mexicana. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Vangrosveld J., Sterckx J., Van Assche F., Clijsters H. 1993. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: effects of revegetation and metal immobilization by beringite. *Journal of Geochemical Exploration*. 5: 221-229.
- van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat H. 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil*. Mayo 2012.
- Wong M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50: 775-780.

