

# EVALUACIÓN DE LA BIOACUMULACIÓN Y TOXICIDAD DE CADMIO Y MERCURIO EN PASTO LLANERO (*Brachiaria dictyoneura*)

## BIOACCUMULATION AND TOXICITY EVALUATION OF CADMIUM AND MERCURY IN LLANERO GRASS (*Brachiaria dictyoneura*)

Catalina ARROYAVE Q.<sup>1</sup>, Pedronel ARAQUE M.<sup>1</sup>, Carlos A. PELAEZ J.<sup>1\*</sup>

Recibido: Abril 16 de 2009 Aceptado: Noviembre 11 de 2009

### RESUMEN

Se estudia la transferencia de mercurio y cadmio desde el sistema suelo hacia *Brachiaria dictyoneura* en función de la capacidad bioindicadora y bioacumuladora. Durante la evaluación de cadmio en *B. dictyoneura* se observó una disminución en el crecimiento del 65%. La toxicidad de cadmio se correlaciona con la acumulación consecutiva del catión durante el tiempo de monitoreo. En el tratamiento con mercurio, a partir de los 30 días de exposición, se observó disminución en el contenido del catión en la planta, presentando posiblemente fitorreducción de mercurio  $Hg^{2+}$  a  $Hg^0$  y posterior evaporación. La tolerancia y la capacidad acumuladora de *B. dictyoneura* podrían ser utilizadas para fitoremediación en sitios co-contaminados por Cd y Hg.

**Palabras clave:** metales pesados, transferencia, fitotoxicidad, fitorreducción, fitoremediación.

### ABSTRACT

The transfer of mercury and cadmium in *Brachiaria dictyoneura* was studied in terms of bioaccumulative capacity and as a bioindicator. During the evaluation cadmium in *B. dictyoneura* show a decrease of 65%. The toxicity of cadmium was correlated with the consecutive accumulation of the cation during the monitoring time. With respect to mercury, a decrease in cation content in the plant was observed 30 days after exposure, presenting possible phyto-reduction of mercury ion  $Hg^{2+}$  to  $Hg^0$  in *B. dictyoneura* and subsequent evaporation. The tolerance and accumulator capacity of *B. dictyoneura* could be used for phyto-remediation of sites co-contaminated with Cd and Hg.

**Keywords:** heavy metals, transfer, phytotoxicity, phyto-reduction, phyto-remediation.

---

1 Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM). Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. A.A. 1226. Medellín, Colombia.

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: cpelaez@matematicas.udea.edu.co

## INTRODUCCIÓN

La disposición de materiales que contienen metales pesados, en los suelos es de gran interés por sus implicaciones ambientales (1). La presencia de metales pesados no sólo se debe a la contaminación antropogénica, sino que, además, existe contribución por meteorización de rocas, al que se denomina nivel basal. Con frecuencia los metales pesados se encuentran en forma iónica interactuando fuertemente con la matriz del suelo. Estos metales pueden movilizarse y cambiar su forma química debido a cambios en las condiciones medioambientales, entre los que se pueden citar el uso del suelo o la saturación de la capacidad de taponamiento (2).

El cadmio (Cd) y el mercurio (Hg) son dos elementos no esenciales de amplia distribución y bien conocidos por sus efectos altamente tóxicos en los sistemas biológicos (3). En las últimas décadas ha aumentado la disponibilidad de estos elementos por la explotación minera. La posterior liberación de estos metales es motivo de preocupación, como consecuencia del aumento de su biodisponibilidad y riesgo toxicológico.

La contaminación de praderas y suelos de cultivo con metales pesados procedentes de industrias de fundición, residuos y materias primas como fosfatos (4), es la principal vía de entrada en la cadena alimenticia cuando son consumidos y acumulados por los animales domésticos (5). Conscientes de esta problemática, los entes gubernamentales de muchos países, y muy concretamente las autoridades colombianas, han establecido que los valores de concentración máxima permitidos para Cd y Hg en fertilizantes, abonos orgánicos y enmiendas orgánicas, son de 39 mg Kg<sup>-1</sup> y 17 mg Kg<sup>-1</sup>, respectivamente (6).

En el proceso de introducción y evaluación de especies forrajeras como base de la alimentación se han seleccionado para las sabanas orientales materiales promisorios como *B. dictyoneura*, base potencial de un sistema de pastoreo continuo de bovinos en la altillanura colombiana. Es una planta muy estudiada en la agricultura como forraje (7), pero poco se conoce sobre su capacidad acumuladora de metales pesados.

En el presente trabajo fue evaluada la capacidad de transferencia y acumulación de metales pesados (Cd y Hg) sobre *B. dictyoneura*. Adicionalmente, el efecto tóxico fue estudiado en función de las características morfológicas del modelo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales de siembra

El compost ruminal (comercial) y el suelo agrícola para siembra fueron suministrados por el Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares. La información detallada sobre las características fisicoquímicas del compost y el suelo se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Análisis fisicoquímico del material utilizado para siembra.

Análisis fisicoquímicos	Compost	Suelo
pH	6,4 ± 0,2	7,1 ± 0,1
Humedad (%)	58,6 ± 0,4	38,6 ± 0,2
Cenizas (%)	30,5 ± 0,4	78,9 ± 0,8
Carbono Orgánico (%)	31,0 ± 1,0	7,1 ± 0,3
CIC (meq100 g <sup>-1</sup> )	64,9 ± 0,1	29,3 ± 0,8

CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico

Las semillas de *B. dictyoneura* (familia *Poaceae*) fueron adquiridas en una casa comercial (Agrosemillas S.A), con pureza del 96%, germinación 80%. Las semillas se almacenaron en la oscuridad, con humedad relativa del 30% y temperatura de 4°C, para inhibir su germinación y mantener su viabilidad. Las siembras se realizaron en materas plásticas (59 cm de largo x 13 cm de alto x 12 cm de ancho), con capacidad de 4 Kg. El suelo agrícola se suplementó con compost a razón de 30 toneladas/hectárea (8).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Preparación de celdas

El estudio se realizó en condiciones de invernadero, en un área de 2.7 m<sup>2</sup>, cubierta con polipropileno, a 27°C en el día; 22°C en la noche y una humedad relativa de 64%, aproximadamente. El suelo agrícola se mezcló hasta homogenizar con soluciones de Cd (como CdCl<sub>2</sub>, Aldrich) y Hg (como HgCl<sub>2</sub>, Merck), hasta obtener concentraciones de 1, 5, 25 y 125 mg Kg<sup>-1</sup>.

El efecto de Cd y Hg sobre la capacidad bioindicadora de *B. dictyoneura* se estudió de la siguiente forma: a 2 Kg de suelo agrícola tratados con Cd y Hg en las diferentes concentraciones, se adicionaron 5 g de semillas de *B. dictyoneura*. A los 20 días

se procedió a medir la altura de la plántula, que se monitorizó durante 50 días y en cuatro réplicas.

### Determinación de cadmio y mercurio en suelo y planta

La capacidad bioacumuladora de *B. dictyoneura* fue determinada en las siguientes condiciones: a cada tratamiento (suelo y planta) se le practicó la cuantificación de los metales por un periodo de 50 días. La planta, seca y triturada, y el suelo fueron sometidos a digestión ácida asistida (HCl 2M) durante 30 minutos para la previa extracción de los metales; la determinación de Cd se realizó por espectrometría de absorción atómica con atomización en llama, y para la determinación de Hg se empleó el método de absorción atómica con vapor frío (9). La evaluación de los resultados se obtuvo por comparación estadística, utilizando análisis de varianza a una vía (ANOVA), empleando el programa STATGRAPHICS plus 4.0 (Statistical Graphics Corp.). Para el análisis general de la varianza se establecieron correlaciones entre las variables y el análisis de dispersión para comparar pares de valores.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Toxicidad y acumulación de Cd y Hg

La toxicidad y acumulación de Cd y Hg sobre *B. dictyoneura* se llevó a cabo evaluando el efecto de la concentración de los metales en el intervalo (1-125 mg Kg<sup>-1</sup>), en un tiempo de exposición de 50 días. En la tabla 2 se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los contenidos de Cd y Hg, al aumentar la concentración de 1 mg Kg<sup>-1</sup> a 25 mgkg<sup>-1</sup> en el sustrato, que se reflejó en el incremento de la acumulación en la planta; sin embargo, no se presentó diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre el control (en ausencia del metal) y el tratamiento con respecto al crecimiento y coloración de la plántula, como se muestra en la tabla 3, lo que demuestra que *B. dictyoneura* es tolerante a estas concentraciones. Este efecto también ha sido observado en *Solanum nigrum* tratado con Cd y As, planteándose un mecanismo similar al de *Brassica juncea* y *Pteris vittata* (10), *Brassica napus* (11), *Thlaspi caerulescens* (12) tolerantes a Cd. Con Hg se ha planteando un mecanismo para *Arabidopsis thaliana* (13) *Brassica juncea* (14) que les permite ser tolerantes a Hg.

**Tabla 2.** Análisis cuantitativo de Cd y Hg en *B. dictyoneura*.

Tratamiento en el suelo (mgkg <sup>-1</sup> )	Cd en la planta (mgkg <sup>-1</sup> )	Hg en la planta (mgkg <sup>-1</sup> )
1	9,6 ± 0,2	1,9 ± 0,2
5	14,7 ± 0,2	3,6 ± 0,2
25	27,8 ± 0,1	2,5 ± 0,1
125	205,4 ± 0,1	2,0 ± 0,2

**Tabla 3.** Efecto de Cd y Hg sobre el crecimiento de *B. dictyoneura*.

Tratamiento en el suelo (mgkg <sup>-1</sup> )	Longitud de plántula tratada con Cd (cm)	Longitud de plántula tratada con Hg (cm)
1	42 ± 3	43 ± 5
5	45 ± 2	44 ± 4
25	40 ± 5	46 ± 2

Los mecanismos de tolerancia a altas concentraciones de metales pesados en plantas son conocidos como acumulación y exclusión (10). La estrategia de acumulación consiste en que la planta acumula en mayor proporción el contenido del metal en tejidos diferentes a la raíz, transportándolo a la semilla. La estrategia de exclusión consiste en transportar el metal por el xilema, desde la raíz hasta la hoja, y eliminarlo por volatilización (10). En la figura 1, para el Cd a 125 mg Kg<sup>-1</sup>, se observó incremento en la acumulación y disminución en el tamaño de *B. dictyoneura*, del 65%. Esta disminución puede describirse como un retraso en el crecimiento de *B. dictyoneura* por efecto tóxico del Cd sobre el modelo.

Para el Hg a 125 mg Kg<sup>-1</sup> presentó disminución en la acumulación del metal pero no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) en el tamaño de *B. dictyoneura* entre control y tratamiento, lo que indica que tiene mayor tolerancia a Hg que a Cd. Las estrategias utilizadas en el mecanismo de tolerancia a Hg a partir de esta concentración pueden ser: restricción de la entrada de Hg por la raíz o exclusión de Hg de la planta por volatilización (13).

### Cinética de transferencia de cadmio

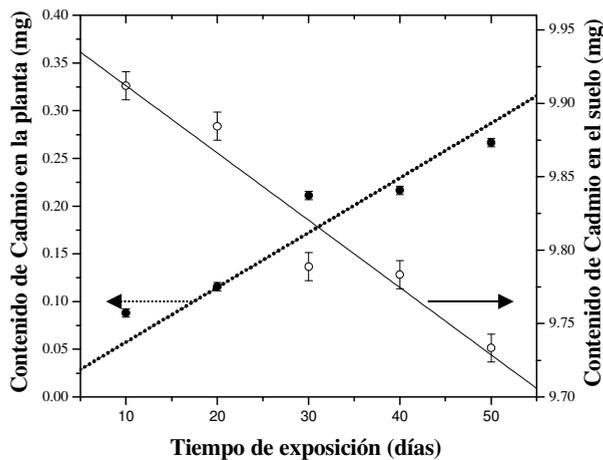
La cinética de transferencia de Cd hacia *B. dictyoneura* se llevó a cabo evaluando el comportamiento del suelo que contenía Cd a una concentración de



**Figura 1.** Efecto Cd y Hg en las características morfológicas de *B. dictyoneura*. (A) Control. (B) Tratamiento con Cd (125 mgkg<sup>-1</sup>). (C) Tratamiento Hg (125 mgkg<sup>-1</sup>).

5 mg Kg<sup>-1</sup>. En la figura 2 se observa una disminución gradual en el contenido de Cd, presentando una correlación estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre el tiempo de exposición y el contenido de Cd en el suelo, con un coeficiente de correlación del 0,97 y describiendo para este comportamiento una cinética de orden cero expresada en la ecuación 1.

$$Cd_{(suelo)} = 9.958 - 0.005 \times t \quad \text{Ecuación 1.}$$



**Figura 2.** Efecto del tiempo de exposición de *B. dictyoneura* en suelo dopado con compost y Cd a 5 mgkg<sup>-1</sup>: (●) planta, (○) suelo. Porcentaje de error del 5%.

Con respecto al contenido de Cd se observó un aumento, presentando una correlación estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre el tiempo de exposición y el contenido de Cd, con un coeficiente de correlación del 0,99. Se describe para este comportamiento un modelo expresado en la ecuación 2.

$$Cd_{(planta)} = 0.0058 \times t \quad \text{Ecuación 2.}$$

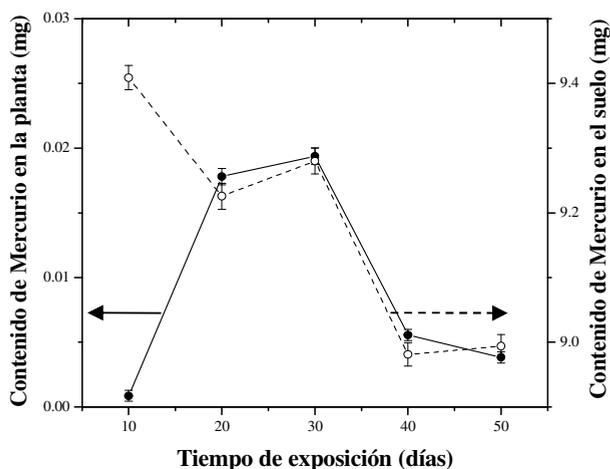
Durante los 50 días de exposición de *B. dictyoneura* al tratamiento con Cd, se observó una continua absorción del metal, que indicaba una transferencia del suelo a la planta proporcional al tiempo de exposición.

#### Cinética de transferencia de mercurio

Para estudiar la cinética de transferencia de Hg sobre *B. dictyoneura* se evaluó el suelo inoculado a 5 mgkg<sup>-1</sup>. En la figura 3 puede evidenciarse una disminución gradual en el contenido de Hg en el suelo en los primeros 20 días de exposición. Entre los días 20 y 30 permaneció constante ( $p > 0,05$ ), y a partir del día 30 continúa la disminución. Con respecto al contenido de Hg en la planta se observa absorción acumulativa de Hg hasta el día 30, entre los días 20 y 30 no se halló diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ), presentando una absorción constante. A partir del día 30 se observó disminución en el contenido de Hg en la planta, lo que indica que la estrategia utilizada por *B. dictyoneura* como mecanismo de tolerancia al Hg, es más de exclusión que de restricción de la entrada de este metal por la raíz, ya que el suelo muestra pérdida gradual de Hg en el tiempo.

Considerando a las propiedades físicas del Hg se ha planteado que este elemento puede reducirse de mercurio divalente (Hg<sup>2+</sup>) a mercurio metálico (Hg<sup>0</sup>), volatilizándose por transpiración. Esta fitoreducción constituye un mecanismo de detoxificación (14).

La eficiencia de la fitorreducción de Hg parece ser el resultado de una coordinación óptima de la



**Figura 3.** Efecto del tiempo de exposición de *B. dictyoneura* en suelo dopado con compost y Hg a  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ : (●) planta, (○) suelo. Porcentaje de error: 5%.

transferencia y la transformación bioquímica de iones de mercurio a vapor de  $\text{Hg}^0$ . Sin embargo, esta transferencia parece que no sólo depende de la dinámica del flujo de la transpiración sino, además, de una circulación lenta entre los componentes estructurales de la planta; así, la capacidad y la cinética de acumulación del mercurio compiten con el transporte en el flujo de transpiración, por lo que puede requerir algún tiempo para el equilibrio en el xilema, antes de que se inicie la reducción en las hojas (13), hecho que se puede percibir entre los días 20 y 30, donde el contenido de Hg permanece constante, y posteriormente, la disminución en la planta se da a lo largo de 30 días.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio mostraron que *B. dictyoneura* tiene un mecanismo de tolerancia para Cd, basado en estrategia de acumulación, ya que se encontró que el 23% del Cd absorbido por la planta se encuentra en la raíz y el 77% restante, distribuido entre tallo y hojas. También indican que *B. dictyoneura* tiene un mecanismo de tolerancia para Hg, probablemente implementando estrategias de acumulación y exclusión, dado que esta planta tolera mercurio por su capacidad de acumular y disminuir la concentración en suelos contaminados.

Estas características permiten considerar a *B. dictyoneura* como modelo biológico de nuevas alternativas en fitorremediación, teniendo en cuenta, para el caso de mercurio, que debe hacerse recolec-

ción de la planta antes de la pérdida de mercurio por volatilización.

En el caso del cadmio, este estudio podría presentar a *B. dictyoneura* como un modelo bioindicador importante en el tratamiento de suelos contaminados, debido a su capacidad acumulativa del Cd.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia por el financiamiento de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Labanowski J, Monna F, Bermond A, Cambier P, Fernandez C, Lamy I, *et al.* Kinetic extractions to assess mobilization of Zn, Pb, Cu, and Cd in a metal-contaminated soil: EDTA vs. citrate. *Environ Pollut.* 2008; 152 (3): 693-701.
- Stigliani WG. Overview of the Chemical time Bomb Problem in Europe. En: Meulen, G.R.B.; Stigliani, W.M.; Salomons, W.; Brides, E.M. and Imeson, A.C. (eds). *Chemical Time Bombs. Proceedings of the Europa State-of-the-Art Conference on Delayed Effects of Chemicals in Soils and Sediments.* 1993. p. 13-29.
- Sánchez A, López M, Nadal J. Bioaccumulation of lead, mercury, and cadmium in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): sex- and age-dependent variation. *Environ Pollut.* 2007; 145 (1): 7-14.
- Barceló J, Poschenrieder C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environ Exper Bot.* 2002; 48 (1): 75-92.
- Méndez Batán J. Metales pesados en alimentación animal. En: XVII Curso de Especialización FEDNA. Orense: COREN S.C.L.; 2003. p. 1-9.
- Colombia. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. NTC 5167. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo. Bogotá: ICONTEC; 2004.
- Brito E, Aguilar C, Cañas R, Vera R. Sostenibilidad de *Brachiaria dictyoneura* en tres suelos contrastantes de la altillanura colombiana. *II Arch Latinoam Prod Anim.* 2008; 6 (1): 39-58
- Jackson A, Alloway B. The transfer of cadmium from agricultural soils to the human food chain. En: Adriano DC, editors. *Biogeochemistry of trace metals.* Boca Raton, FL: Lewis; 1994.
- Colombia, Antioquia. Grupo de investigación GIEM. Protocolo para determinación de mercurio por absorción atómica. Medellín: Instructivos Universidad de Antioquia; 2005.
- Sun Y, Zhou O, Diao S. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Bioresour Technol.* 2008; 99 (5): 1103-1110.
- Grispen V, Nelissen H, Verkleij J. Phytoextraction with *Brassica napus* L.: A tool for sustainable management of heavy metal contaminated soils. *Environ Pollut.* 2006; 144 (1):77-83.
- Battke F, Ernst D, Fleischmann F, Halbach S. Phytoreduction and volatilization of mercury by ascorbate in *Arabidopsis thaliana*, European beech and Norway spruce. *Appl Geochem.* 2008; 23 (3): 494-502
- Van N, Mertens J, Oorts K, Verheyen K. Phytoextraction of metals from soils: How far from practice?. *Environ Pollut.* 2007; 150 (1): 34-40.
- Moreno F, Anderson C, Stewart R, Robinson B. Phytoremediation of mercury-contaminated water: volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environ Exper Bot.* 2008; 62 (1): 78-85.