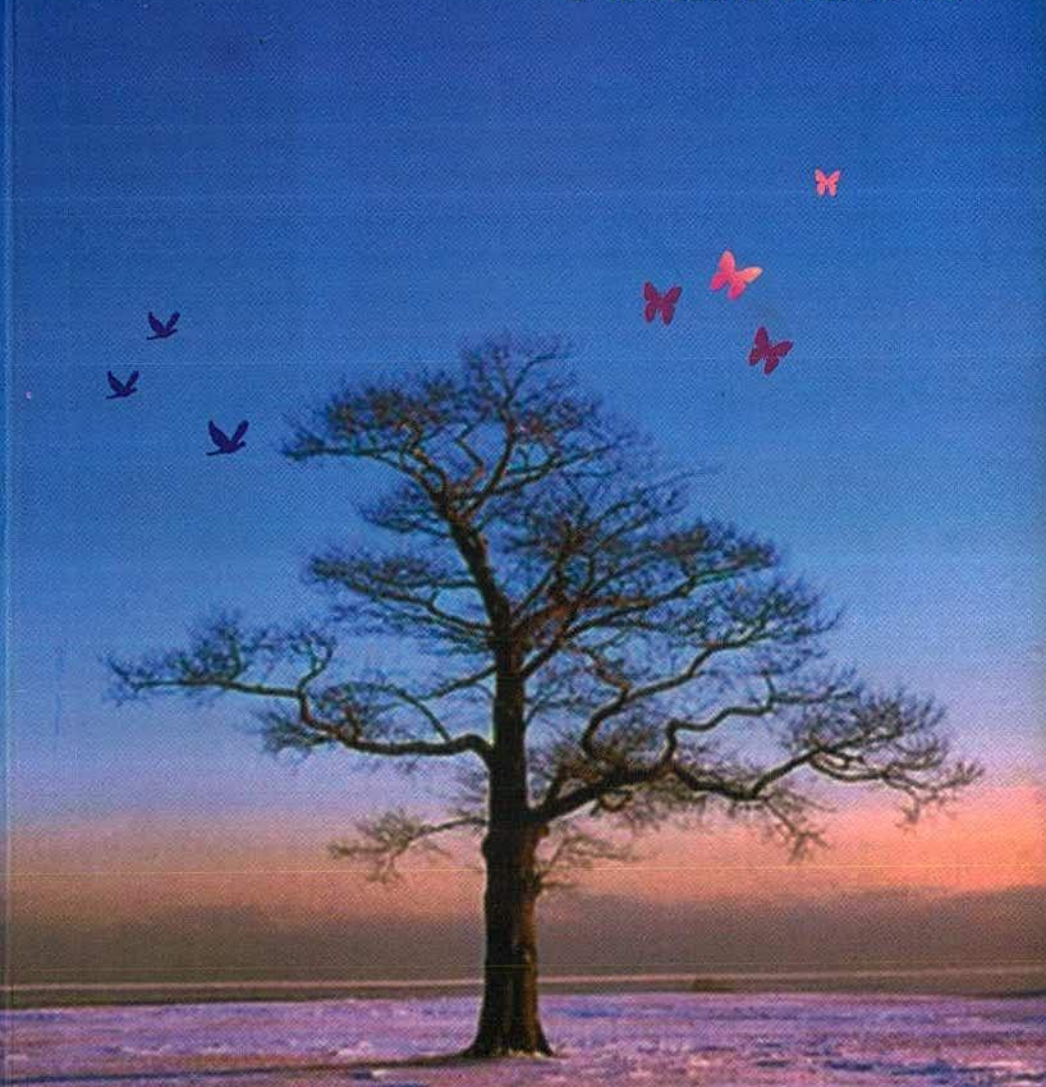


# **FITORREMEDIACIÓN COMO TECNOLOGÍA EMERGENTE PARA LA DESCONTAMINACIÓN**

**Lina Beatriz Pinto García**



26401

Reg. 63632

**FITORREMEDIACIÓN COMO  
TECNOLOGÍA EMERGENTE PARA LA  
DESCONTAMINACIÓN**

**LINA BEATRIZ PINTO GARCÍA**

**Título:**  
**FITORREMEDIACIÓN**  
**COMO TECNOLOGÍA**  
**EMERGENTE PARA LA**  
**DESCONTAMINACIÓN**

**Autor:**  
**Lina Beatriz Pinto García**

**ISBN: 958-8009-64-2**

**Impresión:**  
**PRISMA IMPRESORES**  
**Pasto Nariño**

**Los artículos son propiedad de los editores, por lo tanto se prohíbe la reproducción de los mismos.**

# ÍNDICE

## Presentación

1. Introducción .....	9
1.1 Generalidades .....	9
1.2 Procesos Básicos .....	10
1.3 Ventajas y Limitaciones del Método.....	14
2. Aplicación.....	17
2.1 Plantas Fitorremediadoras.....	17
2.2 Contaminantes.....	19
2.3 Importancia de la Rizósfera y de.....	28
los Microorganismos Asociados	
3. Fitorremediación a Nivel Molecular y Fisiológico	32
3.1 Generalidades.....	32
3.2 Transformaciones Enzimáticas.....	34
3.3 Translocación.....	37
3.4 Hiperacumulación e Hipertolerancia.....	38
4. Caso Colombiano.....	41
4.1 Reportes.....	41
4.2 Fitorremediación de TNT.....	44
5. Perspectivas de la fitorremediación.....	49
6. Referencias.....	52

## **PRESENTACIÓN**

La publicación de trabajos y documentos que contribuyan de manera significativa a la innovación para encarar los problemas del desarrollo humano sostenible forma parte de la Misión institucional de CINSET.

La fitorremediación se nos presenta como una de las tecnologías emergentes con mayores posibilidades en el tratamiento de la contaminación. Sus aplicaciones van desde la rehabilitación de cuerpos de agua hasta la recuperación de factores de producción utilizables en agricultura e industria. Es por ello que el trabajo de Lina Beatriz Pinto García ha merecido nuestra especial consideración pues representa una contribución en el desarrollo de la Biología en Colombia y se atreve a plantear la utilización de la tecnología fitorremediadora en la recuperación de territorios afectados por la presencia de minas antipersonales y explosivos, anticipando lo que podría ser toda una estrategia de intervención en el post conflicto colombiano.

Al entregar este documento a las comunidades empresarial, investigadora y académica y a la ciudadanía en general, deseamos agradecer el aporte de Libardo Cabrera, Gerente de Prisma Impresores, de María Paula Rojas Roa diseñadora de la carátula, así como las contribuciones de las entidades nacionales e internacionales que respaldan nuestro trabajo institucional.

**JUAN CARLOS GUTIERREZ ARIAS**  
Director Ejecutivo de CINSET

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Generalidades:

Contrario a la percepción contemporánea, la idea de emplear plantas para descontaminar diferentes ambientes viene de siglos atrás cuando, hace aproximadamente trescientos años, su uso fue propuesto para el tratamiento de aguas de desecho [1]. Sin embargo, apenas en 1885 aparecieron los primeros reportes de plantas acumuladoras de metales [2] y desde entonces los estudios en el tema fueron esporádicos e hicieron crónica de tales especies como simples “curiosidades de la naturaleza”. No obstante, con el redescubrimiento en 1977 de dichos organismos “anormales”, se pensó en las plantas como sistemas descontaminadores con enormes posibilidades [3]. Así nació el concepto de Fitorremediación el cual, en términos generales, se define como *el uso de vegetación y de sus microorganismos asociados para el tratamiento de suelo, agua o aire contaminados*.

El uso de plantas para tratar contaminantes se basa en el aprovechamiento de los procesos naturales de absorción de agua y nutrientes a través de las raíces y de la transpiración por medio de las hojas, así como de la maquinaria enzimática de ciertas plantas para convertir compuestos tóxicos en formas menos dañinas [4].

Las ventajas que ofrece este método son innumerables y de gran valor, pues no sólo se pueden llevar a cabo procesos de descontaminación invirtiendo pocos recursos, sino que también se pueden dar, de manera simultánea, procesos de rehabilitación del suelo para una explotación ulterior, idealmente sostenible [4]. Adicionalmente, el uso de esta tecnología disminuye la erosión del suelo por causa del agua y del viento, lo cual ayuda a evitar que los contaminantes se dispersen, manteniéndolos confinados en un sitio determinado [4].

En los últimos diez años la fitorremediación ha ganado gran aceptación como tecnología emergente debido, principalmente, a su rentabilidad económica, a sus cualidades estéticas y a su aplicación a largo plazo [5], características que la ubican dentro de las “estrategias verdes” con mayor proyección en el marco del desarrollo sostenible. Sin embargo, la fitorremediación puede seguir considerándose una tecnología muy joven, en pleno desarrollo investigativo, con muchos interrogantes por resolver que demandan a la comunidad científica esfuerzos continuos en busca de un entendimiento más profundo de los procesos involucrados.

Por otro lado, la tecnología remediadora basada en plantas no se puede concebir como la gran panacea, pues presenta ciertos problemas, en términos de tiempo, de identificación de plantas aptas para un sitio y un contaminante específicos, del entendimiento de los procesos fisiológicos y bioquímicos para acumulación y degradación, y de maximización de la actividad fitorremediadora. Por lo anterior, numerosos laboratorios en todo el mundo se encuentran desarrollando investigaciones que permitan optimizar el método y, dentro de este marco, la biología molecular, como herramienta para la modificación genética de las plantas en cuestión, juega un papel fundamental [4].

## 1. 2 Procesos Básicos

Bajo el término de fitorremediación se agrupan numerosos mecanismos para remover contaminantes, los cuales no son mutuamente exclusivos:

- **Filtración:** Las raíces pueden hacer las veces de filtros al concentrar los contaminantes en humedales o en hidropónicos (*Rizofiltración*). Asimismo, la absorción de agua por parte de los árboles genera una fuerza hidráulica que impide la lixiviación y/o la dispersión horizontal del agua contaminada [4].
- **Fitoestabilización:** Con el fin de reducir la interacción de los compuestos tóxicos con la biota asociada, las plantas son usadas para absorber y precipitar contaminantes, reduciendo

así la movilidad de los mismos por efecto de la erosión y la lixiviación [4, 6].

- **Fitoextracción/Fitoacumulación:** Los contaminantes son extraídos y posteriormente traslocados a los tejidos de las raíces o de las partes aéreas de la planta. Allí, dichos contaminantes son acumulados y, debido a esta propiedad, las plantas capaces de almacenar grandes concentraciones de metales pesados (100 veces mayores a las encontradas en plantas no acumuladoras) reciben el nombre de hiperacumuladoras. El proceso mediante el cual plantas hiperacumuladoras son utilizadas para limpiar suelos contaminados con metales pesados recibe el nombre de *Phytomining* [7, 8].
- **Fitoestimulación o Rizodegradación:** En este mecanismo las plantas actúan como facilitadoras del proceso de degradación efectuado por los microorganismos asociados a la rizósfera y lo hacen de diferentes maneras [5]:
  1. Los exudados proporcionados por la planta inducen a las enzimas bacterianas para que se realice la transformación de los contaminantes.
  2. Los hongos y las bacterias asociados a las raíces metabolizan compuestos orgánicos.
  3. Las plantas mantienen las condiciones del medio bajo las cuales las poblaciones microbianas actúan de manera óptima.
  4. Gracias al oxígeno liberado por las plantas, de forma pasiva y activa, se promueve la transformación aeróbica por parte de los microorganismos.
- **Fitodegradación/Fitotransformación:** Los contaminantes pueden ser eliminados vía fitodegradación ofitotransformación, gracias a las enzimas y a los cofactores presentes en las plantas. Los compuestos resultantes tienen una toxicidad menor y en muy pocos casos se da la mineralización completa [5, 6].
- **Fitovolatilización:** A través de los estomas de la planta, los contaminantes se liberan una vez transformados en formas

volátiles, las cuales tienen dos destinos posibles: permanecer en la atmósfera o ser degradadas por los radicales hidroxilo [7].

La fitorremediación es una técnica que puede ser empleada para una amplia variedad de contaminantes. No obstante, las propiedades particulares del contaminante en cuestión determinan, en gran medida, el mecanismo fitorremediador que se debe aplicar para asegurar el éxito en la remediación de un ambiente. En base a lo anterior, es indispensable reconocer la naturaleza de dichos contaminantes: orgánica o inorgánica.

Los contaminantes orgánicos pueden ser altamente tóxicos y, en algunos casos, cancerígenos. Proviene principalmente de diferentes actividades humanas tales como la industria y la actividad bélicas (explosivos, armas químicas), el derramamiento de combustibles o solventes, la agricultura (especialmente la extensiva que emplea grandes cantidades de herbicidas y pesticidas), los desechos industriales (químicos, petroquímicos), entre otros. La fitorremediación de éste tipo de compuestos puede darse a través de varias vías: rizodegradación, fitodegradación, fitoacumulación o fitovolatilización [4]. Sin embargo, para que la remediación mediada por plantas sea exitosa, adicionalmente se deben tener en cuenta una serie de parámetros como: la movilidad del contaminante en el suelo (que a su vez está determinada por la solubilidad relativa del compuesto en el agua), el tamaño y la carga molecular, la presión de vapor y la presencia de otros compuestos orgánicos. Este último parámetro está altamente relacionado con la biodisponibilidad<sup>a</sup> del contaminante, pues ésta se ve reducida con el aumento de materia orgánica en el suelo. Adicionalmente la biodisponibilidad también disminuye a medida que transcurre el tiempo, haciendo, por ejemplo, que un suelo fertilizado durante un largo período muestre resultados poco favorables luego del tratamiento de fitorremediación [9].

Los compuestos inorgánicos, por otro lado, se encuentran en el ambiente de manera natural y únicamente en concentraciones elevadas pueden llegar a ser tóxicos, como consecuencia de

---

<sup>a</sup> *Biodisponibilidad* se define como el grado o la tasa a la cual una sustancia es absorbida o está disponible en un sitio de actividad fisiológica. En este caso el término se refiere específicamente a la capacidad del agente contaminante para ser absorbido por la planta.

alteraciones ambientales causadas por actividades antropogénicas como la minería, la industria, las actividades militares, el tráfico vehicular y la agricultura. La descontaminación se puede llevar a cabo mediante fitoestabilización, fitoacumulación o fitovolatilización, dado que tales compuestos no pueden ser degradados [4, 9]. Este último mecanismo, la fitovolatilización, sólo se puede realizar con ciertos elementos inorgánicos (e.g. mercurio, selenio) dejando como única alternativa, en la mayoría de los casos, la remoción de la biomasa. La fitorremediación presenta en este aspecto enormes ventajas frente a otras técnicas biorremediadoras, mediadas por hongos, algas o bacterias, debido a que no se ha diseñado un método económicamente rentable para retirar dichos microorganismos; en contraste las plantas pueden ser fácilmente removidas del área [9].

Por otra parte, la fitorremediación presenta tres métodos generales de aplicación [6]:

1. **Fitorremediación *in situ*:** Este es el método que representa menores costos de inversión pues únicamente implica la disposición de plantas fitorremediadoras en la superficie de suelo, agua o sedimentos contaminados. En caso de que los contaminantes residan en el agua subterránea, las plantas deben sembrarse en suelos o sedimentos que estén, a su vez, en contacto con dicha porción de agua. Para la implantación de este método es esencial que los contaminantes tengan accesibilidad física a las raíces de la plantas.
2. **Fitorremediación *ex situ* con relocalización de contaminantes:** Se da este tipo de aplicación cuando los contaminantes no son accesibles a las plantas. Se debe extraer el contaminante a través de medios mecánicos y trasladarlo a un área de tratamiento, lo cual se traduce en costos un poco más elevados que los del método anterior. En dicha zona destinada al tratamiento, las plantas llevan a cabo su trabajo y posteriormente el suelo o el agua descontaminados son llevados a su lugar de origen.
3. **Fitorremediación *in vitro*:** El agente descontaminador no son las plantas sino componentes activos de éstas. Extractos vegetales pueden ser directamente adicionados en cuerpos de

agua contaminados (e.g. humedales) o a través de un material poroso impregnado con la enzima de interés. Sin embargo, lo anterior se realiza con mayor frecuencia una vez el material contaminado ha sido relocalizado temporalmente en un área de tratamiento. Adicionalmente, es importante tener en cuenta la vida media de la enzima que degrada el contaminante. Como es de suponer, este tipo de aplicación es el más costoso por los procesos que implica.

### 1.3 Ventajas y Limitaciones del Método

A nivel mundial ha venido en aumento la implantación de leyes ambientales que contemplan planes estratégicos de descontaminación. En este contexto se halla inmersa la fitorremediación y gracias a las numerosas ventajas que supone ha venido posicionándose como una de las alternativas con mayor aceptación.

La rentabilidad del método es sin duda el atractivo que despierta mayor interés, pues los métodos existentes para descontaminar *ex situ* (e.g. adsorción con carbono activo, microorganismos, filtración de aire, lavado del suelo, separación química o física de contaminantes) o *in situ* (e.g. estímulos aeróbicos o anaeróbicos que promueven la actividad microbiana) requieren altas inversiones de capital [6] y están técnicamente limitados a áreas pequeñas. En contraste, la fitorremediación, al usar la luz solar como fuente de energía, puede llegar a costar 60-80% menos que los métodos fisicoquímicos convencionales [7].

En Estados Unidos el mercado de la fitorremediación ha tenido un crecimiento muy significativo en los últimos cinco años y los países de la Comunidad Europea, por su parte, están destinando grandes porciones presupuestales a la investigación en el área que permitan en un futuro cercano hacer de la fitorremediación una técnica comercialmente viable para resolver problemas de contaminación [10, 11]. Dados los bajos costos y las facilidades de implementación de la tecnología remediadora basada en plantas, ésta surge también como una alternativa interesante para países en desarrollo [4].

Debido a que en la mayoría de los casos la remediación mediada por plantas es llevada a cabo *in situ*, su aplicación causa menos trastornos al medio ambiente y contribuye a la preservación de la capa superficial del suelo [7]. También reduce la exposición de humanos y animales a los contaminantes [4].

Puesto que los procesos involucrados en la fitorremediación ocurren naturalmente, la técnica no demanda grandes esfuerzos y se da de manera más bien pasiva [5, 6]. El proceso mediante el cual hay cierto grado significativo de descontaminación, sin interferencia humana alguna, recibe el nombre de atenuación natural y corresponde al mecanismo más sencillo de fitorremediación, pues únicamente requiere de monitoreo [4].

Otra ventaja que se suma a las anteriores es la aceptación general de la fitorremediación como “tecnología verde”, por ser un método estéticamente apacible, que conserva los recursos naturales y que prácticamente no emite gases nocivos al aire y al agua [6]. Incluso la remediación en sitios urbanos puede integrarse en un diseño tal, que el proceso de descontaminación transcurra paralelamente a la creación de espacios públicos [4].

Como se mencionó anteriormente, la fitorremediación posee ventajas pero también limitaciones. La primera de ellas es la toxicidad que puede ser causada a las plantas por las elevadas concentraciones de materiales nocivos, por lo tanto el nivel de contaminación no puede ser tan extremo que impida el crecimiento de los agentes remediadores [5, 6]. Asimismo, en situaciones donde el contaminante se encuentre más allá del alcance físico de la raíz, la fitorremediación no será la mejor alternativa para descontaminar un ambiente dado. Su aplicación se limita entonces a suelo, agua o sedimentos cercanos a la superficie [5, 6].

El flujo de contaminantes (i.e. fitovolatilización) o la degradación de los mismos a través de sistemas fitorremediadores (i.e. fitodegradación, rizodegradación) son mecanismos relativamente rápidos, extendiéndose a periodos cortos, de días o meses. Sin embargo, la fitoacumulación puede durar años, haciendo que su aplicación se vea restringida [4].

Otro factor determinante para implementar fitorremediación

es la biodisponibilidad del contaminante, pues sólo será removida la fracción que pueda interactuar con la planta. En consecuencia, cuando la descontaminación pretende ser completa, la fitorremediación no será un método efectivo si la biodisponibilidad no es cercana al 100%. En muchos casos es recomendable emplear una tecnología diferente (e.g. excavación de las áreas más contaminadas) y dejar la fitorremediación como elemento último de la metodología para obtener mejores resultados [4].

Por otro lado, la acumulación de material tóxico en las plantas puede poner en riesgo a las poblaciones animales que se alimentan de ellas. Por lo tanto la implantación de la técnica fitorremediadora debe ir acompañada de estudios de toxicidad en animales que puedan verse afectados por el consumo de las plantas, para determinar si las concentraciones presentes en los sistemas fitorremediadores son efectivamente nocivas o no. Adicionalmente, el contacto entre animales y plantas debe minimizarse colocando barreras tales como cercas, redes, ruido o espantapájaros [4].

La fitorremediación, como se mencionó anteriormente, permite tratar numerosos ambientes contaminados con una amplia variedad de compuestos. No obstante, tal versatilidad implica la carencia de una “prescripción fitorremediadora” que pueda ser aplicada para toda iniciativa. Por el contrario, son muchos los factores que influyen en el resultado final de un proceso de fitorremediación y el plan de acción debe consistir en una compleja ecuación de numerosas variables, específicas para cada caso (e.g. interacción con insectos, patógenos y pestes, estrés generado por la exposición a los contaminantes, condiciones climáticas y del suelo) [6].

## 2. APLICACIÓN

### 2.1 Plantas Fitorremediadoras

Idealmente, los sistemas fitorremediadores deben contar con las siguientes características [12]:

- Plantas nativas (resulta riesgoso introducir especies exóticas en sitios donde no hayan estado de antemano)
- Plantas perennes (una especie de larga duración, que produce más de una vez semillas en su vida, requiere de un menor esfuerzo de manejo que plantas anuales o bisanuales, las cuales son rápidamente reemplazadas por el fenómeno de sucesión y, por lo tanto, su permanencia depende de disturbios frecuentes. Esto sólo aplica para tratamientos *in situ*).
- Densidad (la planta fitorremediadora debe tener dispersión eficiente, en caso de que el tratamiento se de *in situ*).
- Gran producción de biomasa (el crecimiento rápido de la planta conlleva a una tasa elevada de absorción de nutrientes y, asimismo, de contaminantes [13]).
- Alta tolerancia al contaminante
- Evidencia de remediación
- Tolerancia a la salinidad
- Fijación de nitrógeno

Adicionalmente, Gerth (2000) propone que también se deben tener en cuenta aspectos como:

- Vitalidad (i.e. resiliencia a influencias fisicoquímicas y biológicas)
- Habilidad para regenerarse luego de situaciones de estrés
- Asociación con microorganismos
- Asociación con otras especies
- Comportamiento reproductivo
- Demandas de localización
- Efectos ecológicos
- Efectos antropogénicos

Debido a que la fitorremediación es una tecnología en pleno

desarrollo, hay diversas entidades que se han preocupado por organizar la información referente al tema y proporcionar bases de datos que faciliten la escogencia de una planta para un proceso de remediación determinado. Entre dichas bases de datos, las más completas y de mayor importancia son:

- PHYTOPET ([www.phytopet.usask.ca](http://www.phytopet.usask.ca)) es una base de datos de las plantas relacionadas con la fitorremediación de hidrocarburos del petróleo.
- La EPA (The U.S. Environmental Protection Agency) ha creado varios documentos que proporcionan información básica sobre fitorremediación, enlistan especies apropiadas para la aplicación del método y suministran *abstracts* de algunos artículos publicados respecto al tema. Dichos documentos llevan por título “Introduction to Phytoremediation”, “Phytoremediation Field Studies Database for Chlorinated Solvents, Pesticides, Explosives, and Metals” y “Phytoremediation Resource Guide”; se pueden encontrar en la página de la EPA ([www.epa.gov](http://www.epa.gov)). Esta institución también ha creado guías para instruir a la población sobre las estrategias de fitorremediación aplicadas, posibilitando que las personas se familiaricen con el tema y respondan positivamente a la implantación de la técnica, particularmente en espacios urbanos.
- La organización CABI proporciona un programa llamado “Forestry Compendium” (<http://www.cabi.org/compendia/fc/index.asp>) que provee información útil para la selección de plantas para una amplia variedad de usos, incluyendo la fitorremediación.

## **2.2 Contaminantes**

### **Metales pesados**

La fitorremediación fue propuesta inicialmente como una tecnología para la limpieza exclusiva de suelos contaminados con metales pesados, pues la identificación de plantas hiperacumuladoras mostró que tales organismos tenían el potencial genético para acumular altas concentraciones de dichos elementos [14]. Los metales pesados pueden resultar en suelos destinados a la agricultura o pertenecientes a espacios urbanos, debido a la minería, a la manufactura y al uso de productos sintéticos tales como pinturas, baterías, pesticidas, desechos industriales, entre otros [15].

Los métodos tradicionales de descontaminación (tratamientos con altas temperaturas, agentes solidificantes y procesos de lavado) son muy costosos y se restringen a áreas pequeñas [15]. Tales limitaciones postulan a la fitorremediación como una excelente alternativa, lo cual se refleja en la gran cantidad de bibliografía existente sobre la aplicación de la técnica en suelos contaminados con metales pesados.

Las plantas tienen una tendencia natural para absorber metales como cobre, cobalto, hierro, molibdeno, manganeso, níquel y zinc, pues estos elementos son esenciales en diversas rutas metabólicas. Otros metales, como el cadmio y el plomo, no tienen actividad fisiológica conocida [14]. Se ha observado que algunas enfermedades en humanos resultan de la presencia de cadmio, selenio y plomo. Asimismo, se han encontrado animales envenenados con selenio que habitan zonas cuyos suelos están contaminados con dicho metal. También el molibdeno afecta a rumiantes y la presencia de Zn, Ni y Cu ha reducido poblaciones vegetales, aledañas a centros de actividad minera y de fundición [16].

La fitorremediación de metales pesados se puede llevar a cabo a través de los mecanismos de fitovolatilización, rizofiltración, fitoestabilización o fitoextracción [15, 16].

La fitovolatilización se ha logrado a partir de plantas de *Arabidopsis thaliana* a las cuales se les ha transferido un gen bacteriano que permite la reducción del ión mercurico ( $Hg^{2+}$ ) para formar  $Hg^0$ , el cual es fitovolatilizado [17]. Por otra parte, estudios han mostrado la viabilidad de remediación de suelos contaminados con selenio; plantas de importancia comercial, como el brócoli, son capaces de volatilizar dicho elemento [18].

La rizofiltración de aguas negras mediante el jacinto de agua o buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) ha sido un método ampliamente utilizado en varios municipios del continente asiático [19]. Igualmente, raíces de girasoles (*Helianthus annuus*) cultivados en hidropónicos han sido capaces de remover metales como Pb, Cu, U, Sr, Cs, Co y Zn hasta niveles adecuados de acuerdo a los estándares [20]. Otras especies que han mostrado buena actividad rizofiltradora de plomo son la mostaza parda (*Brassica juncea*) y *Typha latifolia*. Según un estudio realizado en China, ésta última especie sirvió para reducir de manera muy significativa los niveles de zinc y plomo en aguas de desecho provenientes de una mina [21].

La fitoestabilización de metales se basa en el uso de plantas altamente tolerantes a estos contaminantes, que los inmovilicen e impidan su introducción en la cadena trófica [20]. Los metales son absorbidos y acumulados por las raíces, o precipitados al interior de la rizósfera [15]. La gran mayoría de especies utilizadas con fines fitoestabilizadores son plantas endémicas de sitios altamente contaminados (e.g. minas) y hay un gran número de casos reportados donde la inmovilización de metales ha sido exitosa con pastos como *Festuca rubra* y *Agrostis capillaris* [16].

Sin duda, el método más ampliamente utilizado a la hora de remediar suelos contaminados con metales pesados es la fitoextracción. Para ello es determinante el uso sistemas hiperacumuladores, plantas capaces de albergar, en cualquiera de sus tejidos aéreos, concentraciones de metales superiores a los 1000mg/kg de materia seca [16]. Se ha sugerido que la hiperacumulación de elementos tóxicos por parte de la planta juega un rol ecológico importante al proveer protección contra hongos e insectos y que, además, la resistencia a metales pesados

puede incrementarse por procesos de aclimatación gradual como respuesta al estrés provocado por los contaminantes [13].

La fitoextracción es un proceso que se lleva a cabo más fácilmente cuando se trata de metales como níquel, zinc y cobre, pues éstos elementos son preferidos por la gran mayoría de las casi cuatrocientas plantas hiperacumuladoras reportadas hasta ahora. En contraste, plantas acumuladoras de plomo, contaminante más común en suelos, no se han encontrado aún bajo condiciones naturales [15].

El éxito de la fitoextracción es el resultado de una buena interacción entre suelo, planta y metal, que a su vez depende de factores como:

- **Grado de tolerancia:** las plantas deben ser capaces de acumular altas concentraciones de metal en sus tejidos y, de manera simultánea, mantener una tasa elevada de crecimiento [22]. El uso de hormonas vegetales, como auxinas y citoquininas, ha mostrado ser una estimulación efectiva de las habilidades fitorremediadoras de plantas no hiperacumuladoras, aumentando su crecimiento y, por ende, su biomasa [44].
- **Transporte desde la raíz hasta los tejidos aéreos:** para que la fitoextracción sea viable, es esencial que el metal se acumule en la porción de la planta que se ha de remover [22].
- **Absorción del metal:** el contaminante debe atravesar la superficie de la raíz, proceso que puede llevarse a cabo de manera pasiva (metales en forma iónica movilizándose a través de las paredes y membranas celulares) o activa (los iones metálicos se mueven simplásticamente a través de las células de la raíz) [22].
- **Biodisponibilidad del contaminante:** sólo una fracción del metal en el suelo es biodisponible para la planta, pues el resto permanece en formas insolubles, cuyo transporte al interior de la raíz es imposible [14]. Para sortear tal obstáculo, se ha desarrollado el mecanismo de *Fitorremediación Inducida*. Este método consiste en la aplicación previa de agentes

quelantes<sup>b</sup> al suelo, los cuales inducen la absorción del contaminante de interés por parte de la planta, una vez ésta se haya ubicado en el lugar de acción. Debido a que los metales se han de acumular en plantas ya desarrolladas, este método no requiere de tolerancia frente al contaminante y permite el uso de especies con gran cantidad biomasa previamente formada. Como se mencionó anteriormente, no se han encontrado en la naturaleza plantas capaces de acumular plomo, cadmio, arsénico ni uranio. Sin embargo, con la ayuda de agentes quelantes como el EDTA (Acido Etileno Diamino Tetracético) no sólo se mejora la biodisponibilidad del contaminante, sino que también aumenta la tasa de transferencia del metal hacia las raíces y los tallos, al ser traslocados como el complejo metal-agente quelante [22].

La planta hiperacumuladora mejor conocida es el carraspique alpino, cuyo nombre científico es *Thlaspi caerulescens*. Para el estudio de los mecanismos de absorción de metales, acumulación y tolerancia, dentro del marco de la fitoextracción, esta planta ha sido escogida como especie modelo debido a sus asombrosas características: acumula más de 26000ppm de Zn sin mostrar ningún efecto negativo; se empleó para extraer el 22% de cadmio de un suelo contaminado y muestra alto grado de tolerancia frente a dicho metal [14].

## Hidrocarburos del Petróleo

La creciente industrialización a los largo del siglo XX ha ocasionado la contaminación de suelos y aguas subterráneas con petróleo y derivados del mismo. Los hidrocarburos de petróleo se presentan naturalmente y son usados en una amplia variedad de actividades; por ejemplo, el gas natural, el crudo, la brea y el asfalto son tipos de hidrocarburos de petróleo formados por alcanos (e.g. metano, etano, propano), compuestos aromáticos (e.g. benceno, tolueno, etilbenceno y xileno; colectivamente, agrupando sus iniciales, estos compuestos se conocen como BTEX) e hidrocarburos aromáticos policíclicos o PAHs (e.g. naftaleno, fenantreno, antraceno, benzo(a)pireno) [23].

<sup>b</sup> Un agente quelante es compuesto químico capaz de fijar o secuestrar iones metálicos formando compuestos estables llamado quelatos

Por lo general, las plantas empleadas en fitorremediación de hidrocarburos de petróleo son leguminosas y pastos. Estos últimos resultan muy buenos candidatos debido a la formación extensiva de raíces fibrosas que maximizan el área de superficie y penetran hasta 3m de profundidad. Adicionalmente, presentan gran variedad genética, lo cual les otorga ventajas competitivas para establecerse en condiciones de suelo desfavorables [24]. Las leguminosas, por su parte, son plantas con gran potencial fitorremediador, pues tienen la capacidad de fijar nitrógeno, por simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, haciendo que la carencia de este nutriente no sea limitante para su desarrollo [25].

La fitorremediación es una herramienta valiosa para la remediación de suelos contaminados con petróleo, pues se ha encontrado un gran número de plantas que pueden llevar a cabo procesos de fitodegradación, fitoacumulación o fitovolatilización de dichos contaminantes [23].

La degradación de hidrocarburos de petróleo a productos con menor toxicidad y menos persistentes en el ambiente (e.g. alcoholes, ácidos, dióxido de carbono y agua) requiere de una intrincada interacción entre plantas y microorganismos [23], en el contexto del **Efecto Rizósfera**, del cual se hablará más adelante (Sección 2.3). Existe sin embargo evidencia de degradación directa por parte de las plantas. Por ejemplo, semillas de maíz, té y álamo metabolizan metano para convertirlo en ácidos de diferentes tipos [26]. También benceno, tolueno y xileno son degradados por cereales en períodos muy cortos de tiempo [26] y PAHs pueden ser metabolizados por plantas de soya [27].

Existen varios reportes que evidencian la fitoacumulación de hidrocarburos de petróleo en tallos y raíces de algunas especies [23]. Incluso, en ciertos casos, se da la incorporación de contaminantes, como benceno, tolueno y xileno, a las rutas metabólicas de la planta [26].

Factores importantes en la fitoacumulación de hidrocarburos de petróleo son el tamaño y el peso molecular del contaminante (moléculas livianas y pequeñas tienden a ser absorbidas por la raíz, mientras que moléculas grandes y pesadas tienden a ser

excluidas), las condiciones del medio y las características de la planta [28]. En el caso de la descontaminación de PAHs, se ha mostrado que el contenido de lípidos influye en el proceso de acumulación, pues ésta está directamente correlacionada con el contenido de dicha macromolécula en la planta [29].

Otros estudios han demostrado la fitovolatilización de compuestos como naftaleno. No obstante, la presencia de este contaminante en la atmósfera no resulta muy apropiada, pues no se está dando solución al problema, sino transferencia del mismo de un sitio a otro [30].

### **Solventes Clorados:**

Compuestos tales como el tricloroetileno (TCE) son empleados en productos de limpieza para desengrasar metales; también como ingredientes de pinturas, tintas, cosméticos, desinfectantes y anestésicos [31]. Debido a que son compuestos químicamente estables, resistentes a la combustión, los solventes clorados se conocen como “safety solvents” y fueron usados indiscriminadamente a lo largo del siglo XX [32]. Lo anterior ha causado la contaminación de aguas subterráneas y, consecuentemente, la implantación de métodos de remediación de solventes clorados es prioritaria, puesto que tales compuestos son considerados hepatoxinas, agentes mutagénicos y, posiblemente, carcinógenos [33, 34]. Adicionalmente, el cloruro de vinilo, el cual resulta de la degradación de TCE por microorganismos, es un carcinógeno aún más potente en humanos [35].

El TCE, en particular, es un compuesto más denso que el agua, por lo cual tiende precipitarse haciendo que el bombeo de agua para un posterior tratamiento se dificulte y requiera de numerosos ciclos que demandan extensos períodos de tiempo y un presupuesto elevado. Muchos científicos son partidarios de la fitorremediación, es decir, del uso de bombas que funcionan con fuente de energía solar. Sin embargo, otros son escépticos frente al tema argumentando que el TCE se acumula en el fondo de un sistema acuífero, haciendo imposible el contacto con las raíces de las plantas. No obstante, los estudios más recientes apoyan a los defensores de la fitorremediación [36].

La biodisponibilidad de un contaminante se puede describir en términos de RCF<sup>c</sup> y TSCF<sup>d</sup>. Estos factores varían proporcionalmente con la solubilidad del químico en el agua, la cual se expresa como el log K<sub>ow</sub><sup>e</sup>; los compuestos moderadamente solubles adoptan un valor entre 1.5 y 2, rango en el cual se incluyen la mayoría de solventes clorados. En consecuencia, la fitorremediación aparece como una alternativa viable para la remediación de aguas subterráneas contaminadas con tales contaminantes [36].

Schnabel *et al.* (1997) reportaron que plantas comestibles de jardín (e.g. tomate, espinaca y zanahoria) tienen un enorme potencial para absorber y transformar TCE realizando los siguientes procesos: transformación en la rizósfera, absorción de TCE o de sus metabolitos en la raíz, transporte de compuestos hasta las hojas, transferencia a los frutos a través del floema y unión de residuos metabólicos en toda la planta [32]. Gracias a este estudio, se sugirió la investigación del uso de plantas con raíces profundas, tales como el álamo (*Populus*), para la fitorremediación de aguas subterráneas contaminadas con TCE [32].

El género *Populus* presenta enormes ventajas en términos de fitorremediación [36]:

- Agrupa más de 25 especies distribuidas en todo el mundo
- Crecen rápidamente (de 3 a 5 metros por año)
- Tienen altas tasas de transpiración (100 litros por día; alcanzan su óptimo cuando los árboles tienen 5 años de edad)
- No hacen parte de la cadena trófica de humanos
- Los árboles pueden ser usados en la industria papelera o como biomasa para producir energía
- Son de vida larga (de 25 a 30 años)
- Crecen fácilmente a partir de cortes de la planta
- Regeneran fácilmente después de haber removido parte de su biomasa

---

<sup>c</sup>El RCF (factor de concentración en la raíz) es una medida de la concentración del contaminante en la raíz en relación con la concentración en la solución externa.

<sup>d</sup> El TSCF (factor de concentración en el conducto de transpiración) es una medida de la concentración del contaminante en la savia bruta en relación con la concentración en la solución externa.

<sup>e</sup> Un coeficiente de partición es una medida de la solubilidad diferencial de un compuesto en dos solventes. K<sub>ow</sub> se refiere a la solubilidad de un compuesto en agua y octanol y viene siendo un indicador de qué tan hidrofóbica o hidrofílica es una sustancia.

Adicionalmente, se ha evidenciado que el empleo de clones de *Populus* también es efectivo en la remediación de suelos contaminados con otros solventes clorados, como el percloroetileno (PCE), el cual posee características y usos muy similares a los del TCE [37].

Se ha llevado a cabo hibridización de diferentes especies de álamos, aumentando la frecuencia de heterocigotos, con el fin de favorecer características que potencien la fitorremediación. Por ejemplo, el cruce entre *Populus deltoides* con *Populus trichocarpa* produjo plantas con superficies foliares de gran tamaño, las cuales, a su vez, aumentan el potencial de evotranspiración. Este proceso se desarrolla de manera ventajosa en álamos, pues éstos son plantas freatofitas, es decir, que crecen principalmente a lo largo del curso de una corriente de agua y/o donde sus raíces alcanzan la franja capilar. Lo anterior, como es de suponerse, tiene importantes connotaciones en el área de la fitovolatilización. Sin embargo, dado que dicho mecanismo depende de un sistema vivo, se ve afectado por la edad del árbol, la especie, la hora del día, la época del año, la cantidad de radiación solar, etc. [36].

La fitodegradación de TCE se da en la planta a través de un proceso oxidativo que termina en la formación de dióxido de carbono. Adicionalmente, los microorganismos en la rizósfera también tienen una contribución importante en cuanto a la degradación de compuestos orgánicos clorados [36].

También se ha reportado la fitoacumulación de TCE, en casos donde el contaminante permanece como residuo insoluble asociado a las paredes celulares [38].

### **Pesticidas:**

Bajo el término de pesticidas se agrupan varios químicos que incluyen herbicidas, insecticidas, funguicidas, venenos para roedores, entre otros [39]. Es deseable que tales compuestos tengan cierto grado de persistencia, pues de no ser así, serían degradados rápidamente por microorganismos y no estarían ejerciendo su función última [39]. Existen dos razones por las cuales los pesticidas permanecen en la naturaleza:

1. Las condiciones necesarias para la biodegradación no están dadas: los microorganismos que llevan a cabo la degradación pueden estar ausentes, o hay un factor (e.g. nutriente) que limita su acción [39].
2. El contaminante es incapaz de atravesar la membrana celular para ser degradado por las enzimas al interior del microorganismo. La mayoría de compuestos persistentes son producidos artificialmente, lo cual implica que los microorganismos no han estado expuestos al contaminante, durante un tiempo relativamente largo, para que se hayan desarrollado rutas metabólicas capaces de efectuar absorción y/o degradación [39].

En cualquiera de los dos casos expuestos anteriormente, los químicos orgánicos persistentes son altamente estables y representan un gran problema en materia ambiental, debido a la contaminación de suelos y cuerpos de agua [39]. Adicionalmente, durante los últimos años el uso de pesticidas en la agricultura ha venido en aumento, en respuesta a la necesidad creciente de mejorar la productividad de los cultivos, controlar enfermedades, plagas e invasión de hierbas [40].

Por otro lado, debido a que cierto tipo de pesticidas, los herbicidas, están diseñados para eliminar plantas, la implementación de la técnica fitorremediadora para limpiar sitios que presenten tal contaminante se hace, en este caso, relativamente compleja [39].

Muchos pesticidas atentan contra la salud humana. Algunos insecticidas pueden ser absorbidos a través de la piel y acumularse en el tejido adiposo. Otros pueden causar convulsiones, estados hiperexcitados del cerebro y predisposición a la arritmia cardíaca. Alimentarse de trigo tratado con hexaclorobenceno puede provocar intoxicación de la piel. Se ha observado que ciertos pesticidas son carcinógenos; otros afectan el sistema nervioso e incluso, los repelentes, pueden ocasionar cierto grado de toxicidad en la piel [39]. Es así como hay una clara necesidad de emplear opciones alternativas para eliminar los pesticidas del medio, tales como la fitorremediación.

En general, la composición lipídica de los pesticidas permite la bioacumulación en organismos, dado que las membranas celulares presentan el mismo carácter hidrofóbico. Esto hace que el proceso de absorción sea una función de la hidrofobicidad del pesticida, lo cual posibilita establecer qué tan eficazmente va a darse el paso del contaminante en cuestión a través de las membranas celulares de las plantas, para ser posteriormente degradado o almacenado [40].

Un estudio publicado en 1997, mostró que las plantas del género *Kochia* promueven la rizodegradación de compuestos como antrazina, metolachlor y trifluralina, gracias a las interacciones planta-microorganismo que se dan en la rizósfera [41]. Otros trabajos revelaron que los álamos, debido a sus ventajas descritas anteriormente, también son buenas opciones a la hora de fitodegradar pesticidas (e.g. antrazina, arochlor) presentes en aguas subterráneas [39]. Plantas como las eneas (*Typha latifolia*) mostraron ser efectivas en la remoción de metil paratión, pesticida frecuentemente usado en la agricultura de países en desarrollo, donde su uso aún no ha sido reglamentado o prohibido [42]. Las semillas de lupino (*Lupinus angustifolius*) logran acumular cantidades significativas de pesticida y, aparentemente, son capaces de degradar o metabolizar dichos contaminantes [40]. El jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es otra especie que funciona eficientemente, con la ayuda de microorganismos, en la remoción de etión de aguas de desecho provenientes de industrias [43].

Los anteriores son algunos de los ejemplos que evidencian el enorme potencial de la fitorremediación en la descontaminación de suelos y aguas que presentan pesticidas.

### **2.3 Importancia de la rizósfera y de los microorganismos asociados.**

La rizósfera se extiende aproximadamente 1mm más allá de la raíz, formando una zona que se encuentra bajo la influencia de la planta. Esta libera exudados orgánicos, productos de la fotosíntesis, los cuales son usados por los microorganismos como fuente de carbono, dado que más del 20% del carbono

fijado por la planta puede ser liberado a través de sus raíces [4]. Las plantas, a través de sus exudados, pueden proveer energía, nutrientes, enzimas e incluso oxígeno [23]. En consecuencia, la densidad de microorganismos en esta región puede llegar a ser 1-4 veces mayor que en el resto del suelo y a tal fenómeno se le conoce con el nombre de Efecto Rizósfera [4].

Los exudados vegetales varían en cantidad y composición, lo cual depende de la especie, de la edad de la planta, del sitio y de la estación. Puesto que dichos exudados constituyen un puente de comunicación entre plantas y microorganismos, la interacción entre estas dos entidades también se ve afectada, si el estado de los factores ya mencionados cambia. De acuerdo a la composición de los exudados (los cuales se liberan en reacción a un contaminante), la respuesta dada por los microorganismos puede ser más o menos específica y contribuye en mayor o menor grado a la rizodegradación de compuestos nocivos [23].

La biota característica de la rizósfera está compuesta por rizobacterias (simbiontes o de vida libre) hongos y micorrizas. Estos microorganismos, en retribución a la planta donante de nutrientes, estimulan el crecimiento de la misma. Algunas rizobacterias, (e.g. cepas de *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter*) pueden producir ácido indolacético [44]. Este compuesto es una hormona vegetal que promueve el crecimiento de la planta, estimulando bombas ATPasas, las cuales logran que el pH baje y, de esta manera, posibilitan el debilitamiento de las paredes celulares para que se de la expansión celular.

Las rizobacterias no sólo estimulan el crecimiento de la planta a través de la producción de fitohormonas (e.g. auxinas, giberelinas y citoquininas), sino también gracias a la fijación de nitrógeno atmosférico, a una actividad enzimática específica, a la disminución de los niveles de etileno y a la protección contra enfermedades, biosintetizando sustancias antibióticas o depresoras de patógenos, tales como sideróforos<sup>f</sup> y agentes quelantes [44].

---

<sup>f</sup> Los sideróforos son proteínas que tienen una alta afinidad por el  $Fe^{3+}$ , es decir, que actúan como agentes quelantes naturales. Bacterias que colonizan las raíces producen sideróforos y promueven el crecimiento de la planta, disminuyendo el suministro de hierro de la flora nativa, especialmente de microorganismos patógenos.

Los microbios pueden iniciar una acción concertada cuando se ha alcanzado una densidad poblacional particular. Este fenómeno recibe el nombre de “quorum sensing” y es de suma importancia pues, en combinación con otros sistemas reguladores, expande el rango de las señales ambientales que estimulan la expresión de ciertos genes [45]. Por ejemplo, rizobacterias fijadoras de nitrógeno son atraídas por señales químicas liberadas por leguminosas; de esta manera logran adherirse a las raíces y promover la expresión de los genes involucrados en la formación de nódulos. Otras señales químicas que operan bajo el “quorum sensing” son las lactonas (AHLs), las cuales regulan la expresión de genes simbióticos [45].

De acuerdo a lo anterior, se entiende la importancia que ha adquirido, dentro del marco de la fitorremediación, el uso de rizobacterias que promuevan el crecimiento vegetal en zonas contaminadas. Asimismo, acoplar los tratamientos de fitorremediación con el uso de micorrizas arbusculares (micorrizorremediación) también ayuda a aumentar la eficiencia de la descontaminación basada en plantas [44].

En el proceso de remediación que se da en la rizósfera, frecuentemente es difícil distinguir cuáles son los efectos causados por la planta, y cuáles son propios de los microorganismos. Para ello, se efectúan estudios con plantas estériles como control [4]. En muchos casos, sin embargo, se da cometabolismo, proceso que ocurre cuando se trata de sustratos complejos: los microorganismos consumen un compuesto y producen enzimas para transformar otro (sobre el cual no pueden crecer) para volverlo asimilable por su metabolismo. A modo de ejemplo, exudados vegetales pueden sostener poblaciones microbianas que cometabolizan hidrocarburos de petróleo [23].

La remediación a nivel de la rizósfera puede ser un proceso pasivo (fitoestabilización o absorción de ciertos compuestos) o activo (aumento de la biodisponibilidad, rizodegradación o absorción activa) [4].

La biodisponibilidad de un metal es un factor determinante en la viabilidad de la técnica fitorremediadora para descontaminar suelos. Como se mencionó anteriormente, tal limitación puede

ser evadida al emplear agentes quelantes (e.g. EDTA, HEDTA, STPA, EGTA, NTA). No obstante, se ha observado que dichos compuestos pueden limpiar tan eficientemente el suelo, que ellos mismos pueden causar contaminación de la capa freática<sup>g</sup> [46]. Algunas bacterias liberan biosurfactantes<sup>h</sup> los cuales aumentan la solubilidad de los contaminantes hidrofóbicos [47]; exudados vegetales también pueden contener sustancias lipofílicas que, igualmente, incrementan la solubilidad de compuestos poco solubles [48]. Ello evidencia las ventajas de emplear microorganismos del suelo para aumentar la biodisponibilidad de metales [46]. Incluso se ha sugerido la posibilidad de producir comercialmente agentes quelantes naturales para “diseñar una rizósfera” con actividades microbianas que coincidan con las condiciones del suelo y la especie de planta empleada [46].

---

<sup>g</sup> La capa freática es la primera capa de agua subterránea que se encuentra al realizar una perforación y la más susceptible a la contaminación antrópica.

<sup>h</sup> Un surfactante es un compuesto tenso-activo, es decir, que tiene propiedades detergentes. Un biosurfactante, como su nombre lo indica, es un surfactante de naturaleza biológica, como lípidos, glicolípidos, etc.

### 3. FITORREMEDIACIÓN A NIVEL MOLECULAR Y FISIOLÓGICO

#### 3.1 Generalidades

El creciente estudio en el área de fitorremediación ha aludido a la modificación genética de plantas, con el fin de abrir paso a un mejor desempeño del proceso que implique, asimismo, un aumento en la demanda de la tecnología [49]. Para tal efecto se han venido utilizando técnicas convencionales de hibridación, basadas en la selección de especies o ecotipos con características como absorción, degradación, tolerancia, y quelación [9]. No obstante, mejoras genéticas de este tipo están limitadas por la oferta natural de plantas sexualmente compatibles [49]. Tal barrera puede ser sorteada gracias a los desarrollos en biología molecular la cual, sin embargo, demanda continuamente estudios para elucidar los mecanismos moleculares que rigen los procesos asociados a la fitorremediación [50].

Muchas son las modificaciones que se pueden lograr a partir de herramientas moleculares:

- A nivel de la raíz:  
Se pueden diseñar plantas cuyas raíces alcancen mayor profundidad, lo cual permite tener acceso a zonas donde los contaminantes tienden a alojarse con el tiempo. Asimismo, se puede incrementar la densidad de raíces, es decir, aumentar el área de superficie con la cual actúa la maquinaria enzimática de la planta, ya sea al interior del tejido de la raíz o a través de exudados liberados al medio. Adicionalmente es posible mejorar la penetración radicular para llegar a zonas anaeróbicas donde se puede efectuar la remediación de contaminantes orgánicos biodegradables. Por otra parte, se ha sugerido que la gran proliferación de raíces causada por la infección de *Agrobacterium rhizogenes*, la cual es generalmente considerada negativa, puede ser apreciada en esfuerzos de fitorremediación [9].
- En el caso de contaminantes inorgánicos:  
Como se mencionó anteriormente, hay alrededor de 400 plantas hipercumuladoras reportadas hasta el momento. A pesar de

que dicho valor es significativo y ha ido en aumento, no existe una planta ideal que agrupe todas las características para una descontaminación eficiente (i.e. gran producción de biomasa, tolerancia y acumulación), pues siempre debe haber un *trade-off* entre hiperacumulación y biomasa. En consecuencia, con el fin de superar tal limitación, se ha llevado a cabo la introducción de características hiperacumuladoras en plantas que producen abundante biomasa [13].

- Incrementando la compartimentación vacuolar:  
Debido a que la vacuola es el sitio especializado para el almacenaje en levaduras, se ha sugerido que la compartimentación de contaminantes, principalmente de metales, en dicha inclusión citoplasmática hace parte de los mecanismos de tolerancia de la planta. De acuerdo a lo anterior, se ha realizado, por ejemplo, la sobreexpresión de un transportador vacuolar de iones metálicos (TgMTP1) en una planta de mostaza silvestre (*Thlaspi goesingense*) obteniendo resultados optimistas frente a las posibilidades de diseñar organismos fitorremediadores de ese tipo. El transportador vacuolar mejor conocido hasta el momento es el YCF1 de *Saccharomyces cerevisiae*; éste es responsable de la compartimentación de compuestos orgánicos y metales. Se ha mostrado que plantas a las cuales se les ha incorporado YCF1, son capaces de absorber cuatro veces más cantidad de cadmio que plantas silvestres; asimismo, pueden alojar plomo en sus vacuolas [51].
- En el caso de contaminantes orgánicos:  
Debido a que la fitorremediación de contaminantes orgánicos se desarrolla principalmente en la región rizosférica, la estimulación del proceso se ha concentrado en incrementar las tasas de crecimiento microbiano. Los desarrollos en biología molecular apuntan al diseño de plantas que exuden moléculas específicas, las cuales induzcan a la población bacteriana de la rizósfera para que ésta degrade compuestos nocivos de origen antrópico [9].
- Introducción de genes microbianos:  
Otra vía de mejoramiento en el área de fitorremediación consiste en la utilización de plantas a las cuales se les ha

introducido genes microbianos para la biodegradación. Esta práctica ha sido utilizada frecuentemente, no para remediar sitios contaminados, sino para conferir a las plantas resistencia a herbicidas. Movilizar genes microbianos tiene como ventajas un mayor control sobre los procesos biodegradativos y superar el limitante de la baja sobrevivencia que tienen ciertas cepas de microorganismos en el medio natural. Adicionalmente, la introducción de plantas transgénicas posee mayor aceptación frente a la liberación de cepas microbianas al medio y los permisos de experimentación en campo, con plantas alteradas genéticamente, son mucho más factibles que aquellos relacionados con microorganismos [9].

### 3.2 Transformaciones Enzimáticas

Los principales agentes de biorremediación son las plantas, los microorganismos y las asociaciones planta-microorganismo. Su efectividad para remover contaminantes orgánicos está dictaminada por componentes enzimáticos, lo cuales catalizan reacciones para modificar estructuras y propiedades tóxicas de los contaminantes o, incluso, para mineralizar los compuestos orgánicos hasta obtener productos inocuos. La eficiencia de un proceso de degradación depende de qué tan biodegradable es un contaminante, lo cual, a su vez, depende de características como estructura química, concentración, propiedades y condiciones ambientales. Entre mayor sea la diferencia entre los compuestos xenobióticos<sup>i</sup> y aquellos producidos naturalmente, menor será la probabilidad de biodegradación, pues las maquinarias enzimáticas existentes no serán capaces de transformar el contaminante en cuestión [52].

Para que la biodegradación sea exitosa, los contaminantes deben interactuar con los sistemas enzimáticos presentes en los organismos. Si son solubles, estos compuestos nocivos pueden entrar fácilmente a la célula mediante difusión simple. Si no lo son, deben ser previamente transformados en productos solubles. Estas reacciones se dan principalmente gracias a enzimas

---

<sup>i</sup> Un compuesto xenobiótico es un producto químico foráneo para un sistema biológico. También se puede referir a sustancias presentes en concentraciones mucho más altas que las normales.

liberadas por las células al medio, e incluyen **oxidorreductasas**<sup>1</sup> (los exudados vegetales contienen oxidasas<sup>2</sup>) e **hidrolasas**.<sup>1</sup> Los microorganismos que aportan la mayor cantidad de oxidorreductasas son los hongos, los cuales son muchas veces capaces de desarrollarse en concentraciones elevadas de contaminantes que, en contraste, las bacterias no pueden tolerar. Las hidrolasas son enzimas microbianas producidas por una amplia variedad de bacterias y hongos, ya que son necesarias en el metabolismo de estos organismos. Debido a que la especificidad del sustrato es baja, las hidrolasas pueden contribuir de manera importante a la biorremediación de muchos contaminantes, incluyendo desechos insolubles [52].

La absorción de compuestos inorgánicos se da a través de canales membranales o mediante proteínas de membrana a las cuales se une el contaminante para ser transportado activamente al interior de la célula [53]. Sobreexpresar o inhibir transportadores membranales es una herramienta molecular para manipular la absorción de contaminantes. También se puede alterar la especificidad de dichos transportadores o aumentar la producción de agentes quelantes naturales con el fin de incrementar la acumulación de metales [4].

Como se mencionó, los compuestos orgánicos atraviesan la membrana mediante de un proceso pasivo, el cual depende de la hidrofobicidad del contaminante. Compuestos como BTEX, solventes clorados y cadenas alifáticas cortas, todos ellos moderadamente hidrofóbicos ( $\log K_{ow}=1-3.5$ ), pueden ser eficientemente removidos; en contraste, aquellos compuestos altamente hidrofóbicos ( $\log K_{ow} > 3.5$ ) o muy solubles ( $\log K_{ow} < 1.0$ ) son difícilmente transportados al interior de la planta. Químicos con alto grado de hidrofobicidad son buenos candidatos para procesos de fitoestabilización [53].

En general, una vez que el contaminante orgánico ha sido absorbido y translocado (ver sección 3.3), debe sufrir tres fases de transformación [53]:

---

<sup>1</sup> Enzima que cataliza la transferencia de electrones de una molécula a otra.

<sup>2</sup> Las oxidasas son un tipo de oxidorreductasas. Catalizan una reacción de oxidoreducción involucrado O<sub>2</sub> como aceptor de electrones

<sup>1</sup> Enzima que cataliza la hidrólisis de un enlace químico.

- Conversión: oxidación, reducción e hidrólisis.
- Conjugación<sup>m</sup>: con glutatona, azúcares o aminoácidos.
- Compartimentación: conjugados son transformados en otros conjugados y depositados en vacuolas o adheridos a la pared celular y a la lignina.

Este proceso fue descrito inicialmente para mamíferos y, debido a su similitud con plantas se propuso el concepto del “hígado verde” para describir la desintoxicación de xenobióticos [56].

Las enzimas vegetales que generalmente catalizan la primera fase, introduciendo grupos funcionales tales como -OH, -NH<sub>2</sub> o -SH, son las del citocromo P450. La segunda fase es llevada a cabo gracias a al proceso catalítico realizado por enzimas como glutatona S-transferasa (GST), O- y N- glucosiltransferasa y maloniltransferasa. La compartimentación, como se mencionó previamente, se da a través de transportadores vacuolares [53].

Otras enzimas que son potencialmente útiles en procesos de fitorremediación son:

- **Nitrorreductasas:** existen dos tipos de nitrorreductasas: Las Tipo I realizan transferencias de dos electrones a partir de oxígeno. Las Tipo II catalizan reducciones de un sólo electrón. La creación de plantas transgénicas que expresen nitrorreductasas provenientes de bacterias facilitan la fitorremediación de suelos contaminados con explosivos [54].
- **Deshalogenasas:** la deshalogenación es un proceso mediante el cual se remueven halógenos de compuestos tóxicos, haciéndolos menos nocivos. La reacción involucra el reemplazo de halógenos por otros químicos, o la volatilización de los contaminantes [55]. Las deshalogenasas de origen bacteriano se clasifican en dos grupos: el primero, involucra la dehalogenación aeróbica (producción de glicolato que es luego metabolizado) y el segundo, la deshalogenación reductiva (bacterias utilizan los halógenos como aceptores

---

<sup>m</sup> La conjugación corresponde a una serie de reacciones químicas cuyo resultado es la adición de un grupo polar a la molécula xenobiótica, volviéndola así más soluble en agua.

finales de electrones en la respiración) [7]. Estas enzimas son importantes en la fitorremediación de suelos contaminados con PCBs, dioxinas y pesticidas [55].

- **Lacasa:** han sido identificadas en hongos, insectos, plantas y bacterias. Particularmente, las de hongos, están involucradas en la degradación de ligninas, dioxinas y PCBs [7].
- **Peroxidasas:** son enzimas que catalizan la oxidación de ciertos compuestos donadores de hidrógeno, por medio de peróxidos<sup>n</sup>. Están implicadas en la degradación de dioxinas y PAHs [7].
- **Nitrilasas:** estas enzimas catalizan la hidrólisis de nitrilos<sup>o</sup> en el correspondiente ácido carboxílico y amonio (NH<sub>4</sub>). Existen tres nitrilasas reportadas en *Arabidopsis thaliana* que hacen posible la producción de la hormona vegetal AIA (ácido indolacético) [7].

### 3.3 Translocación

La translocación de compuestos orgánicos se da a través de difusión simple desde el simplasto de la raíz hasta el apoplasto del xilema. La entrada de dichos contaminantes está regida por la hidrofobicidad del mismo; aquellos que posean un valor de log K<sub>ow</sub> entre 0.5 y 3 serán más fácilmente translocados [4].

Los contaminantes inorgánicos, por su parte, deben llegar al xilema mediante proteínas transportadoras de membrana ubicadas entre la endodermis y el xilema de la raíz. Algunos de éstos compuestos, como se mencionó anteriormente, están quelados. Un mejor entendimiento de dichos transportadores y de los agentes quelantes involucrados puede llevar a la creación de plantas transgénicas que realicen una translocación más eficiente [4].

---

<sup>n</sup> Los peróxidos son sustancias que presentan un enlace oxígeno-oxígeno, en donde dicho elemento está en estado de oxidación +1.

<sup>o</sup> Nitrilo es un compuesto que cuya molécula incluye el grupo funcional cianuro (-C≡N).

La transpiración vegetal es un proceso vital en la translocación de contaminantes y ésta, a su vez, depende de la presión negativa generada con la pérdida de agua a través de los estomas. En consecuencia, el transporte de compuestos se ve influenciado por los factores que controlan la tasa de transpiración: mecanismo fotosintético (C3, C4 o CAM), diferencias anatómicas (e.g. relación superficie/volumen, densidad de estomas, profundidad de la raíz) y condiciones ambientales (e.g. luz, concentración de CO<sub>2</sub>, humedad relativa, temperatura, viento). De acuerdo a lo anterior, la fitorremediación que dependa de procesos efectivos de translocación y volatilización se va a ver favorecida en lugares donde la transpiración sea alta [4].

### 3.4 Hiperacumulación e Hipertolerancia

Hay varios genes involucrados en la absorción, translocación y acumulación de metales, cuyo traslado a plantas productoras de abundante biomasa constituye una estrategia posible para obtener organismos con mejores características fitorremediadoras, ante las limitaciones ya mencionadas (dificultad para remover el material vegetal, tiempo de duración del tratamiento, etc.). Otra forma para mejorar la absorción de metales consiste en estimular la síntesis de agentes quelantes. Por otro lado, se sabe que la tolerancia a metales está controlada por pocos genes (de uno a tres) [49].

La manipulación genética puede darse en cualquiera de las siguientes direcciones, las cuales caracterizan los procesos moleculares y fisiológicos detrás de la hiperacumulación y de la hipertolerancia:

- Las **metalotioneínas** son proteínas que regulan y metabolizan metales pesados, producidas por animales, ciertos hongos y algunas plantas. Se caracterizan por presentar gran número de cisteínas, las cuales quelan al metal en cuestión, formando enlaces tiolato ( $-S^-$ ) [50]. Genes que codifican para metalotioneínas han sido clonados en muchas especies de plantas logrando aumentar los niveles de tolerancia y de acumulación. Esto último fue significativo cuando el gen clonado era de origen vegetal [49].

- Las **fitoquelatinas** son péptidos vegetales que unen metales pesados; no están codificados en genes (como las metalotioneínas) sino que son sintetizados enzimáticamente por el tripéptido glutatión (GSH). La producción es inducida por la presencia de metales como Cd, Ni, Cu, Zn, Ag, Hg y Pb, y de metaloides como arseniato y selenito. Las fitoquelatinas están compuestas por tres aminoácidos, glutamina, cisteína y glicina, que están organizadas de la forma (-Glu-Cys)<sub>n</sub>-Gly, donde n varía entre 2 y 5 y, en algunos casos, puede llegar hasta 11 [55]. Con la sobreexpresión de glutatión sintetasa, enzima bacteriana que sintetiza GSH, se ha logrado obtener plantas más tolerantes y capaces de extraer mayor cantidad de metales (e.g. cadmio, cromo, cobre, plomo y zinc) [49]. Se cree que la actividad de síntesis de fitoquelatinas está regulada de manera diferente, transcripcional o post-transcripcionalmente, dependiendo de la planta [57].
- Al exterior de las células, a nivel de la rizósfera, se excretan, entre otros compuestos, protones y ácidos orgánicos. Estos acidifican el medio y aumentan la solubilidad de los metales, haciéndolos más biodisponibles. Las H<sup>+</sup>-ATPasas y las bombas de H<sup>+</sup> ubicadas en la membrana son las encargadas de liberar protones al exterior.
- En cuanto a absorción y transporte de metales, se han descrito muchas clases de proteínas que incluyen [57]:
  1. **CPx-ATPasas:** Son transportadores que usan ATP como fuente de energía para bombear diferentes sustratos a través de las membranas. Reciben ese nombre porque se caracterizan por un *motif* intramembranal conservado Cys-Pro-Cys, Cys-Pro-His o Cys-Pro-Ser, el cual parece ser vital en el transporte de metales pesados.
  2. **ATPasas:** En general, están involucradas en la homeostasis y en la tolerancia de las plantas a los iones metálicos.
  3. **Nramp:** Es una familia de proteínas que están implicadas en el transporte de metales divalentes. Resultados iniciales muestran que homólogos de *Nramp* en *Arabidopsis thaliana* codifican para transportadores de metales y que

son expresados, en diferentes cantidades, dependiendo del órgano. Esto sugiere que están regulados de diferente manera o que desempeñan funciones variadas, de acuerdo al tejido.

4. **Proteínas CDF:** Familia de proteínas relacionada con el transporte de Zn, Co y Cd que llevan cationes al exterior de la célula.
  5. **ZIP:** Esta abreviatura agrupa a proteínas permeasas encargadas de transportar principalmente hierro y zinc, pero también manganeso y cadmio.
- Otro desarrollo de plantas transgénicas para la fitorremediación de metales consiste en la introducción de rutas metabólicas, para promover la hiperacumulación y la fitovolatilización de metales. El ejemplo más destacable es el del mercurio: debido a que ciertas bacterias han evolucionado mecanismos para colonizar sitios contaminados con dicho elemento, los genes que confieren resistencia a Hg (genes mer) han sido clonados en plantas, permitiéndoles convertir compuestos de mercurio, tanto orgánicos como inorgánicos, a la forma volátil Hg<sup>0</sup> [49].
  - Estimular la producción de biomasa a través del aumento en la expresión de hormonas vegetales (e.g. giberelinas) es otra estrategia empleada [49].

Por último, es válido resaltar que el entendimiento de los mecanismos moleculares que regulan la acumulación de metales, no sólo plantea diferentes perspectivas en cuanto a fitorremediación, sino que también posee otras implicaciones biotecnológicas. Por ejemplo, diseñar plantas comestibles que acumulen zinc podría ayudar a enriquecer la dieta de personas que presentan deficiencia de metales necesarios para el buen metabolismo, problema muy frecuente en países en vía de desarrollo [58].

## 4. CASO COLOMBIANO

### 4.1 Reportes

Hace más de 500 años, Leonardo da Vinci, uno de los hombres de arte y ciencia más importantes del todos los tiempos, afirmó que “El primer deber del hombre de ciencia es la comunicación. Sólo es ciencia la ciencia transmisible”. Desafortunadamente, en países en vía de desarrollo como Colombia, no sólo la producción científica es baja, sino que la divulgación de la misma muchas veces no hace parte integral de los trabajos realizados.

En cuanto a fitorremediación, a juzgar por la escasez de publicaciones sobre el tema, trabajos empíricos o de investigación para la solución de problemas locales no han sido divulgados [59]. Adicionalmente, los investigadores caen por lo general en el error de publicar sus estudios, sólo cuando éstos han resultado exitosos, desconociendo que los fracasos pueden abrir caminos alternos de exploración científica.

En Colombia, los documentos existentes sobre la técnica fitorremediadora se enfocan, principalmente, en la depuración de aguas de desecho, es decir, de efluentes provenientes de la agricultura, la ganadería, la industria o las labores domésticas [59]. Valderrama (1997) resalta que, en el trópico, el potencial de la técnica para el tratamiento de aguas residuales es mucho mayor, pues no sólo la estabilidad de la temperatura y de la luminosidad permite llevar a cabo procesos de fitorremediación continuos, sino que también, la enorme biodiversidad proporciona una amplia gama de especies que pueden ser utilizadas como agentes depuradores [59].

Chará et al. (1999) señala que la mayoría de estudios sobre fitorremediación se han realizado en países industrializados, donde la situación socio-económica, las condiciones climáticas y la gran cantidad de ingenieros trabajando sobre el tema, han hecho que los resultados sean prácticamente irrelevantes para las necesidades de países en vía de desarrollo, donde la generación de empleo y de ingresos es esencial [60]. Por lo tanto, se requiere de sistemas que estén adaptados al contexto de países como

Colombia, cuya aplicación sea relativamente sencilla, a bajo costo, y donde la técnica de manejo sea la adecuada para las condiciones tropicales y los recursos disponibles [60].

En el Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV), Chará y sus colaboradores desarrollaron Sistemas de Descontaminación Productivos los cuales se componen, en primer lugar, por un *biodigester* (contenedor hermético donde bacterias fermentan agua de desecho y heces), el cual produce metano, biogas que puede ser utilizado por la población rural como fuente de energía. El segundo paso en la purificación del agua tratada es la aplicación de la técnica de fitorremediación, en la cual las plantas acuáticas constituyen un medio apropiado para los microorganismos descomponedores de materia orgánica. Posteriormente, pueden ser usadas como alimento para animales, incluyendo peces. Asimismo, las plantas pueden actuar como fertilizantes orgánicos, debido a que éstas poseen niveles altos de potasio, fósforo y nitrógeno. Además ayudan a mejorar la estructura del suelo y aumentan la capacidad de retención del agua, aspecto de suma importancia en suelos ricos en laterita<sup>P</sup> y arcilla, los cuales están ampliamente distribuidos en los trópicos. Para finalizar el proceso se requiere de peces que se alimenten de fitoplancton, el cual se acumula por la gran cantidad de materia orgánica; los peces pueden ser, a su vez, utilizados como producto alimenticio para otros animales [60].

Los Sistemas de Descontaminación Productivos instalados en Colombia han demostrado ser adecuados para el tratamiento de aguas contaminadas y, simultáneamente, generar ingresos para la población [60, 61].

Por otra parte, Valderrama (1996) realizó un estudio que evaluó el rendimiento de dos plantas acuáticas, *Limnobium laevigatum* y *Eichornia crassipes*, en la descontaminación de aguas residuales provenientes de una planta de lácteos y un criadero de porcinos, con el fin de minimizar el impacto de dicho efluente en el cuerpo de agua receptor. *L. laevigatum* no había sido previamente reportada como especie para la fitorremediación de aguas de desecho y el

---

<sup>P</sup> La laterita es una tierra formada con la 120  
erosión de las rocas y humedecida por el calor y las lluvias tropicales.

estudio concluyó que esta planta es más eficiente el buchón, (*E. crassipes*), organismo más estudiado hasta el momento para el tratamiento de residuos líquidos [62]. Valderrama también señaló que las plantas procesadas pueden ser empleadas como bioabono, lo cual tiene importancia en países tropicales, pues el uso de abonos químicos genera elevación de costos en la producción agraria [59].

Valderrama et al. (2002) también desarrollaron y evaluaron un tratamiento secuencial de agua residual, proveniente de un ingenio azucarero, usando dos organismos fotosintéticos, una microalga (*Chlorella vulgaris*) y una macrófita (*Lemna minuscula*). Debido a que el efluente estaba críticamente contaminado, se hizo necesaria la dilución del agua de desecho, el tratamiento con microalgas y, finalmente, la aplicación de la técnica fitorremediadora, proceso que no sólo contribuyó a la remoción de materia orgánica, sino también a la eliminación de las microalgas presentes [63].

En la Universidad del Valle los esfuerzos se han enfocado en el tratamiento del drenaje ácido de minas; éste es el contaminante inorgánico producido a partir de ciertos minerales sulfurosos (e.g. pirita<sup>q</sup>, calcopirita<sup>r</sup>, pirrotita<sup>s</sup>, galena<sup>t</sup>, arsenopirita<sup>u</sup>) que, al ser explotados quedan expuestos al aire y al agua y, como consecuencia, sufren una serie de cambios químicos, físicos y biológicos en la superficie. En Cali, la zona minera se encuentra sobre el piedemonte del área municipal y la contaminación se da principalmente sobre los ríos Pance, Lili, Meléndez, Cañaveralejo, Cali, Aguacatal y la quebrada el Chocho. Mora et al. desarrollaron un sistema constituido por un lecho de cal, un lecho de compost, un sistema de aireación y un humedal artificial. Este último elemento aplica la técnica fitorremediadora empleando *Cattail tipha* y mostró altas eficiencias de remoción y neutralización. De hecho, la unidad que evidenció mayor rendimiento y consistencia fue el humedal artificial, cuyas plantas no fueron afectadas considerablemente por los contaminantes [64].

Por otra parte, Hoyos (2005) realizó como tesis de pregrado en

---

<sup>q</sup> FeS<sub>2</sub>

<sup>r</sup> CuFeS<sub>2</sub>

<sup>s</sup> FeS

<sup>t</sup> PbS

<sup>u</sup> FeAs

la Universidad de los Andes, una evaluación de la eficiencia de dos especies, sauce (*Salix humboldtiana*) y papiro (*Cyperus papyrus*), para fitorremediar el suelo contaminado con cromo de la ladera del Río Bogotá. Concluye que ambas especies son aptas para tal fin, pero recomienda el uso del sauce, por presentarse más frecuentemente y por ser más efectivo en el proceso de fitoextracción [65].

Como se puede apreciar con los estudios referenciados anteriormente, la fitorremediación es una tecnología que también se está abriendo paso en Colombia y que requiere de una mayor difusión para lograr ser implantada en el país, de manera más amplia, dadas sus enormes ventajas y sus variadas aplicaciones. Los resultados de los trabajos mencionados son alentadores pero, tal como lo mencionó Valderrama (1997), “hace falta no sólo un mayor volumen de trabajos, sino continuidad en los mismos” [59].

#### **4.2 Fitorremediación de TNT**

La contaminación de suelos con compuestos nitrogenados está asociada principalmente al material explosivo. El más tóxico de estos químicos es el 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), el cual es cancerígeno y resulta altamente tóxico para el hígado, la sangre, los ojos y la piel [66]. Dicho compuesto es mucho más persistente debido a su baja solubilidad en el agua [67] y a la ubicación simétrica de dos de sus grupos nitro (-NO<sub>2</sub>) en el anillo aromático, los cuales hacen más difícil su degradación [68].

La presencia de TNT se ha convertido en un problema mundial debido a que muchos sitios han resultado contaminados a causa de detonaciones, combustión de explosivos en depósitos, pruebas militares y eliminación de desechos de la industria bélica [69]. Adicionalmente, el trinitrotolueno es la materia prima principal en la fabricación de minas antipersonales, cuyas repercusiones van más allá de las intencionadas: según un reporte presentado por la UNEP (United Nations Environmental Programme), no

sólo afectan procesos ecológicos al obstaculizar el suelo, sino que también introducen sustancias tóxicas en el suelo a medida que su revestimiento se degrada, si está hecho de madera, o se corroe, si el material que lo recubre es metálico. El TNT puede lixivarse permaneciendo en el suelo o alcanzando el agua subterránea y, de esta manera, atenta contra la salud de animales y humanos que están en contacto con el compuesto. Asimismo, las minas, luego de un tiempo, pueden empezar a liberar metales pesados como mercurio y plomo, los cuales generalmente están presentes en el dispositivo [70, 71, 74].

Colombia es el país con mayor número de minas antipersonales instaladas; su erradicación, como lo afirmó el Vicepresidente Francisco Santos, “es prioridad en la política de Derechos Humanos” [72] y es un tema que concierne a toda la comunidad internacional, tal como se constató con la Convención de Ottawa realizada en Septiembre de 1997. El gobierno colombiano firmó dicha Convención y “la ratificó mediante la Ley 554 del 14 de enero del 2000. Ésta entró en vigor el primero de marzo de 2001 y creó una estructura a nivel nacional encargada del tema” [73]. Existe por lo tanto un esfuerzo continuo por parte de diferentes entidades nacionales e internacionales por eliminar las comúnmente denominadas minas “quiebrapatras”, prohibir la producción, el uso, el almacenamiento, y la transferencia de las mismas.

Adicionalmente, partiendo de una visión optimista, el conflicto armado debe encontrar su fin en el transcurso de los próximos ocho años y ésto supone el impulso de proyectos post-conflicto, marco dentro del cual tiene cabida la rehabilitación de suelos previamente minados, para una futura explotación sostenible de los mismos, que indemnice de alguna manera los daños causados a la población afectada por las minas antipersonales. Es vital resaltar que tal aspecto no ha sido considerado con la importancia que merece, pues prima, como es natural, la defensa de los derechos humanos. Sin embargo, la solución del problema debe cubrir un espectro más amplio, donde la recuperación del medio ambiente afectado ocupe un lugar importante [74].

Es en este contexto donde la fitorremediación aparece como una alternativa novedosa que seguramente permitirá la recuperación de sitios contaminados con TNT, consecuencia del conflicto armado que se ha venido experimentando durante más de cincuenta años.

Los métodos tradicionalmente usados para remediar suelos contaminados con trinitrotolueno son la excavación y la incineración; no obstante, requieren de altas inversiones de energía y presupuesto [66]. Otras tecnologías que se basan en procesos biológicos, tales como el compostaje<sup>v</sup> y el *bioslurry*<sup>w</sup>, también resultan sumamente costosas y, sumadas a las anteriormente mencionadas, contrastan con la rentabilidad que ofrece la fitorremediación [66, 69].

Son varios los autores que han documentado la habilidad que tienen las plantas para absorber y transformar TNT presente en el suelo y en el agua [6]. Dicho auge en la investigación sobre la degradación de tal compuesto se debe, principalmente, a que diversas agencias de protección ambiental han declarado su remoción como materia prioritaria [68].

En general, la tolerancia de las plantas frente al TNT depende de la especie, de las características del suelo, del estadio de desarrollo de la planta y de la biodisponibilidad del contaminante. Las plantas acuáticas y aquellas pertenecientes a humedales muestran inhibición en el crecimiento y clorosis<sup>x</sup> cuando las concentraciones de trinitrotolueno están entre 1 y 5 mg/L. En cambio plantas sembradas en suelo pueden tolerar concentraciones de 50 a 100mg/Kg y algunas soportan incluso los 1600 mgTNT/Kg de suelo [69].

---

<sup>v</sup> El compostaje consiste en mezclar el suelo con material orgánico biodegradable el cual es usado por los microorganismos para transformar TNT.

<sup>w</sup> El bioslurry es un proceso que involucra una mezcla del material contaminado con agua y nutrientes.

<sup>x</sup> Pérdida de clorofila.

Aparentemente, las plantas metabolizan el TNT a partir del proceso del “hígado verde” explicado anteriormente (Sección 3.2), el cual involucra la transformación, conjugación y compartimentación del compuesto xenobiótico [68, 69].

Las fitoestabilización y la fitodegradación son los procesos que se llevan a cabo para remediar la contaminación de suelos con TNT. En este último mecanismo las enzimas fundamentales son las nitrorreductasas y las lacasas [75].

A pesar de que las plantas son remediadores eficientes debido a su gran tamaño, las bacterias son más eficientes por unidad de biomasa [76]. Por ello algunos investigadores han unido las fortalezas de ambos tipos de organismos para crear plantas transgénicas que expresen enzimas claves en el procesos de degradación de TNT (e.g. pentaeritritol-reductasa [77], nitroreductasa [78]), obteniendo organismos más tolerantes al contaminante.

Entre las plantas capaces de degradar TNT en suelos contaminados se encuentra la soya (*Glycine max*), la cual ha sido postulada como una de las especies con mayor potencial fitorremediador por características como [79]:

- Alta absorción de TNT
- Tolerancia a altas concentraciones de TNT
- Habilidad para acumular la mayor parte de los metabolitos (65-70%) en las ramificaciones
- Alta actividad enzimática de una nitroreductasa dependiente de NAD(P)H que participa en la desintoxicación

Adicionalmente, la soya es un cultivo anual adaptado para alturas entre los 360 y 1.200 metros sobre el nivel del mar que produce grandes cantidades de biomasa en cortos períodos de tiempo; según reportes, puede llegar a producir entre 16 y 23 toneladas de forraje verde por hectárea a los 65 días de edad del cultivo [80].

Lo anterior hace de la soya un excelente candidato al desarrollar plantas transgénicas para la fitorremediación de suelos contaminados con TNT en un país como Colombia. A pesar de que el cultivo de la soya está ampliamente distribuido en el país, hay que tener en cuenta que dicha leguminosa no es una planta nativa y que la implantación de la técnica de fitorremediación empleando *Glycine max* debe contemplar esa particularidad.

En resumen, generar plantas modificadas genéticamente, que adquieran habilidades óptimas en cuanto a acumulación y degradación del TNT, y que a la vez minimicen la liberación al medio de metabolitos secundarios, constituye un proyecto muy pertinente y necesario, pensando en las necesidades del país y en el enorme potencial del método.

## 5. PERSPECTIVAS DE LA FITORREMEDIACIÓN

En una época en que la contaminación se ha convertido en un problema de magnitud mundial, es imperativo el desarrollo de métodos innovativos para contrarrestar el intenso daño que, desde la revolución industrial, se ha hecho al medio ambiente [81]. Es por ello que la fitorremediación ha sido rápidamente reconocida como un método efectivo para remediar sitios contaminados [81]. Sin embargo, la gran mayoría de autores que han escrito sobre la técnica de remediación basada en plantas, coincide en que ésta es un área de investigación que está en estado primitivo, pues aún son muchos los interrogantes sin respuesta, principalmente aquellos relacionados con los mecanismos fisiológicos y moleculares detrás del proceso [6, 57, 58].

Muchos consideran que la fitorremediación es una especie de “caja negra”: se sabe en qué grado de contaminación está el agua, el suelo o el aire en cuestión, antes y después de haberse implementado la técnica, pero se desconocen muchos de los procesos que ocurren al interior del sistema [59]. Sólo si se tiene un conocimiento completo de los factores moleculares y fisiológicos determinantes en la fitorremediación será posible el diseño de un fitorremediador ideal, cuya actividad descontaminadora sea óptima [51].

Adicionalmente, la secuenciación completa del genoma de *Arabidopsis thaliana* y del arroz, y la disponibilidad de nuevas tecnologías genómicas, harán posible la identificación de un gran número de genes fundamentales en la remediación, por ejemplo, a nivel de regulación (e.g. factores de transcripción) y de transporte [4, 57]. Eapen et al. (2005) proponen la creación de una librería de genes muy bien caracterizados, que ayude a promover el desarrollo de plantas alteradas genéticamente para mejorar sus propiedades fitorremediadoras [49].

Otros autores subrayan la importancia de realizar estudios que evidencien el balance de masa<sup>y</sup> y el destino metabólico de los contaminantes para que una aplicación más extensa de la fitorremediación sea viable [7, 36].

Macek et al. (2000) mencionan que la fitorremediación ha logrado el nacimiento de un nuevo paradigma, en el que las plantas ya no son valoradas por sus cualidades estéticas o alimenticias, sino por su capacidad para absorber, secuestrar, destruir y tolerar contaminantes [81].

Una de las aplicaciones más interesantes que ha tenido la fitorremediación y que bosqueja las proyecciones de la técnica en un futuro lejano, es el tratamiento de las excretas humanas en el "biohome". Este fue un proyecto desarrollado por la NASA en 1989, el cual consistió en un sistema cerrado donde un ser humano podría, eventualmente, habitar durante un período relativamente extenso en el espacio interestelar. Plantas acuáticas y semiacuáticas (e.g. *Iris pseudacorus*, *Typha latifolia*, *Scirpus californicus*, *Panicum repens*, *Canna falccida*, *Zantedeschia aethiopica*) fueron empleadas como filtros, cuyo efluente podía, luego de un proceso de desinfección con luz ultravioleta, utilizarse en el baño y la cocina del "biohome" [59].

Para que la técnica fitorremediadora se posicione del todo, como una tecnología comercialmente factible, no sólo se requiere de investigación adicional, sino de mayor experiencia en campo, pues la mayoría de estudios se han llevado a cabo en laboratorios, bajo condiciones relativamente controladas y durante periodos cortos de tiempo, los cuales no constituyen un reflejo fiel de los resultados que se pueden obtener en problemas de contaminación reales [6]. Asimismo, los costos asociados con la implantación de la fitorremediación son difíciles de estimar, pues se carece de la información necesaria. Los datos existentes hasta el momento sugieren que inicialmente la aplicación de la técnica puede ser relativamente costosa, debido a los requerimientos de monitoreo, pero los valores declinarán rápidamente una vez se haya ganado experiencia [14].

---

<sup>y</sup>El balance de masa es una medida del material que entra y sale del sistema

Algunos científicos dedicados a la investigación sobre fitorremediación señalan la necesidad de abordar el tema de manera interdisciplinaria, debido a la complejidad encontrada en cuanto al tipo y al grado de contaminación, y a los asuntos sociales y legales involucrados al llevar a cabo un proceso de remediación. Por lo tanto, no sólo se requiere la participación de botánicos, fisiólogos vegetales, microbiólogos, agrónomos e ingenieros ambientales, sino también la colaboración de representantes empresariales y gubernamentales que permitan situar a la fitorremediación en un contexto integral [82]. El medio en el que dicho panorama puede originarse debe ser establecido a través de vínculos estrechos entre universidades, institutos de investigación, sector productivo y entidades gubernamentales [13]. Tal tratamiento del tema permitirá la formulación de un plan de investigación comprehensivo, que asegure su continuidad y evite la redundancia [14].

Compete a los biólogos asegurar el rigor científico en el esfuerzo fitorremediador y a la vez vincular estos nuevos desarrollos del conocimiento con los problemas más acuciantes de nuestra sociedad.

## 6. REFERENCIAS

1. Hartman WJ Jr. (1975). An evaluation of land treatment of municipal wastewater and physical siting of facility installations; Washington DC : US Dep. Army
2. Baumann, A. (1885). Das Verhalten von Zinksätzen gegen Pflanzen und im Boden. Landwirtschaft. Vers.-Statn, 31, 1-53.
3. Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D., Jaffre, T. (1977). Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. Journal of Geochemistry and Explorer, 7, 49-77.
4. Pilon-Smits, Elizabeth. (2005). Phytoremediation. Annual Review of Plant Biology, 15, 15-39.
5. Gerth, A. (2000). Phytoremediation of Soil and Sludge with Special Examination of Heavy Metal Contamination. En Wise, D.L., Trantolo, D.J., Chichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U. (Eds.). Bioremediation of Contaminated Soils (pp. 787-809). New York, EE.UU. Marcel Dekker, Inc.
6. Susarla, S., Medina, V.F., McCutcheon, S.C. (2002). Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering; 18, 647-658.
7. Morikawa, H., Erkin, Ö.C. (2003). Basic process in phytoremediation and some applications to air pollution control. Chemosphere; 52, 1553-1558.
8. Brooks, R.R., Chambers, M.F., Nicks, L.J., Robinson, B.H. (1998). Phytomig. Trends in Plant Sciences, 3, (9), 359-362.
9. Cunningham, S.D., Ow, D.W. (1996). Promises and Prospects of Phytoremediation. Plant Physiology, 110, 715-719.
10. Lasat, M.M. (2000). Phytoextraction of Metals from Contaminated Soil: A Review of Plant/Soil/Metal Interaction and Assessment of Pertinent Agronomics Issues. Journal of Hazardous Substance Research, 2, 1-25.
11. Barceló, J., Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. Contributions to Science, 2, (3), 333-344.
12. Godwin, Thorpe. (2000). Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Clearing Oil-Contaminated Sites. Saskatoon, SK, Canada: R.E.Farell University of

- Saskatchewan, Department of Soil Science, pp. 7-8
13. Pulford, I.E., Watson, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environment International*, 29, 529-540.
  14. Lasat, M.M. (2002). Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31, 109-120.
  15. United States Department of Agriculture. (2000). Heavy Metal Soil Contamination. (Soil Quality – Urban Technical Note No. 3).
  16. Li, Y.M., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J. (2000). Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils. En Wise, D.L., Trantolo, D.J., Chichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U. (Eds.). *Bioremediation of Contaminated Soils* (pp. 837-857). New York, EE.UU. Marcel Dekker, Inc.
  17. Rugh, C.L., Wilde, H.D., Stack, N.M., Thompson, D.M., Summers, A.O., Meagher, R.B. (1996). Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial merA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 3182-3187.
  18. Zayed, A.M., Terry, N. (1994). Selenium volatilization in roots and shoots: Effects of shoot removal and sulphate level. *Journal of Plant Physiology*, 143, 8-14.
  19. Negri, M.C., Hinchman, R.R. (1996). Plants that remove contaminants from the environment. *Laboratory Medicine* 27, 36-40.
  20. Wong, M.H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50, 775-780.
  21. Lan, C.Y., Chen, G., Li, L., Wong, M.H. (1992). Use of cattails in treating wastewater from Pb/Zn mine. *Environmental Manage*, 16, 75-80.
  22. Salt, D.E. (2000). Phytoextraction: Present Applications and Future Promise. En Wise, D.L., Trantolo, D.J., Chichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U. (Eds.). *Bioremediation of Contaminated Soils* (pp. 729-743). New York, EE.UU. Marcel Dekker, Inc.
  23. Frick, C.M., Farrell, R.E., Germida, J.J. (1999). Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. Department of Soil Science, University

- of Saskatchewan, Saskatoon, SK Canada.
24. Aprill, W., Sims, R.C. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 20, (1-2), 253-265.
  25. Gudin, C., Syratt, W.J. (1975). Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. *Environmental Pollution* 8, 107-112.
  26. Durmishidze, S.V. (1977). Metabolism of certain air-polluting organic compounds in plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 13, (6), 646-653.
  27. Edwards, N.T., Ross-Todd, B.M. and Garver, E.G. (1982). Uptake and metabolism of <sup>14</sup>C anthracene by soybean (*Glycine max*). *Environmental and Experimental Botany*. 22, (3), 349-357.
  28. Anderson, T.A., Guthrie, E.A., Walton, B.T. (1993). Bioremediation in the rhizosphere. *Environmental Science and Technology*. 27, (13), 2630-2636.
  29. Edwards, N.T. (1983). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) in the terrestrial environment – a review. *Journal of Environmental Quality*. 12, (4), 427-441.
  30. Watkins, J.W., Sorensen, D.L., Sims, R.C. (1994). Volatilization and mineralization of naphthalene in soil-grass microcosms. In Anderson, T.A., Coats, J.R. (Eds.). *Bioremediation through Rhizosphere Technology* (pp. 123-131). American Chemical Society: Washington, D.C. ACS Symposium Series 563.
  31. Shang, T.Q., Doty, S.L., Wilson, A.M., Howald, W.N., Gordon, M.P. (2001). Trichloroethylene oxidative metabolism in plants: the trichloroethanol pathway. *Phytochemistry*, 58, 1055-1065.
  32. Schnabel, W.E., Dietz, A.C., Burken, J.G., Schnoor, J.L., Alvarez, P.J. (1997). Uptake and transformation of trichloroethylene by edible garden plants. *Water Research*, 31, (4), 816-824.
  33. Lash, L.H., Fisher, J.W., Lipscomb, J.C., Parker, J.C. (2000). Metabolism of Trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives*, 108, (2), 177-200.
  34. Moore, M.M., Harrington-Brock, K.H., 2000. Mutagenicity of trichloroethylene and its metabolites: implications for the risk assessment of trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives*, 108, (2), 215-233.

35. Creech J.L., Johnson N.M. (1974). Angiocarcinoma of the liver in the manufacture of polyvinyl chloride. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 16, 150.
36. Chappell, J. (1997). Phytoremediation of TCE using *Populus*. Status Report prepared for the U.S. EPA Technology Innovation Office under a National Network of Environmental Management Studies Fellowship.
37. Isebrands, J.G., Rockwood, D.L., Hall, R.B., Linder, A., Pacheco, A., Brown, N., Langue, R.M. Phytoremediation of a Perchloroethylene Contaminated Site in La Salle, Illinois with *Populus* Clones – A Field Evaluation
38. Shang, T.Q., Gordon, M.P. (2002). Transformation of [<sup>14</sup>C] trichloroethylene by poplar suspension cells. *Chemosphere*, 47, 957-962
39. Frazar, C. (2000). The Bioremediation and Phytoremediation of Pesticide-contaminated Sites. National Network of Environmental Studies (NNEMS) Fellow. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office. Washington, DC.
40. Garcinuño, R.M., Fernández-Hernando, P., Cámara, C. (2003). Evaluation of pesticide uptake by *Lupinus* seeds. *Water Research*, 37, 3481-3489.
41. Coats, J.R., Anderson, T. (1997). The Use of Vegetation to Enhance Bioremediation of Surface Soils Contaminated with Pesticide Wastes. US EPA. Office of Research and Development. Washington, DC.
42. Amaya-Chávez, A., Martínez-Tabche, L., López-López, E., Galar-Martínez, M. (2006). Methyl parathion toxicity to and removal efficiency by *Typha latifolia* in water and artificial sediments. *Chemosphere*, 63, 1124-1129.
43. Xia, H., Ma, X. (2006). Phytoremediation of ethion by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) from water. *Biosource Technology*, 97, 1050-1054.
44. Khan, A.G. (2005). Role of soil microbes in the rizhospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 355-364.
45. Daniels, R., Vanderleyden, J., Michiels, J. (2004). Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Reviews*, 28, 261-289.

46. White, P.J. (2001). Phytoremediation assisted by microorganisms. *Trends in Plant Science*, 6, (11), 502.
47. Volkering, F., Breure, A.M., Rulkens, W.H. (1998). Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. *Biodegradation*, 8, 401-417.
48. Siciliano, S.D., Germida, J.J. (1998). Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environmental Reviews*, 6, 65-79.
49. Eapen, S., D'Souza, S.F. (2005). Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnology Advances*, 23, 97-114.
50. Ow, D.W. (1996). Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation. *Resources, Conservation and Recycling*, 18, 135-149.
51. Tong, Y., Kneer, R., Zhu, Y. (2004). Vacuolar compartmentalization: a second-generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends in Plant Science*, 9, (1), 7-9.
52. Gianfreda, L., Rao, M.A. (2004). Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 35, 339-354.
53. Dietz, A.C., Schnoor, J.L. (2001). Advances in Phytoremediation. *Environmental Health Perspectives*, 109, (1), 163-168.
54. Hannink, N., Rosser, S.J., French, C.E., Basran, A., Murray, J.A.H, Nicklin, S., Bruce, N.C. (2001). Phytodetoxification of TNT by transgenic plants expressing a bacterial nitroreductase. *Nature Biotechnology*, 19, (12), 1168-1172.
55. United States Environmental Protection Agency. (2001). A Citizen's Guide to Chemical Dehalogenation. The citizen's Guide Series.
56. Sandermann, H. (1994). Higher plant metabolism of xenobiotics: the 'green liver' concept. *Pharmacogenetics*, 4, 225-241.
57. Yang, X., Feng, Y., He, Z., Stoffella, P.J. (2005). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 339-353.
58. Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, Ute. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal

- accumulation. Trends in Plant Science, 7, (7), 309-315.
59. Valderrama, L.T. (1997). Las plantas acuáticas: una alternativa para el tratamiento de aguas residuales en Colombia. *Innovación y Ciencia*, 6, (2), 46-53.
  60. Chará, J., Pedraza, G., Conde, N. (1999). The productive water decontamination system: A tool for protecting water resources in the tropics. *Livestock Research for Rural Development*, 11, (1).
  61. Pedraza, G., Chará, J. (1997). Aspectos Técnicos y Conceptuales en la Descontaminación Productiva de Aguas. En Osorio, H., Espinel, R. (Eds.). *Memorias del V Seminario-Taller Internacional en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria*. Cali, Colombia: CIPAV
  62. Valderrama, L.T. (1996). Uso de dos especies de macrófitas acuáticas, *Limnobium laevigatum* y *Eichhornia crassipes* para el tratamiento de aguas residuales agroindustriales. *Universitas Scientiarum*, 3, (1-2), 83-97.
  63. Valderrama, L.T., Del Campo, C.M., Rodríguez, C.M., De Bashen, L.E., Bashan, Y. (2002). Treatment of recalcitrant wastewater from ethenol and citric acid production using the microalga *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. *Water Research*, 36, 4185-4192.
  64. Mora, J.M., Portilla, J.A., Barba, L.E. Alternativa biotecnológica para el tratamiento de drenaje ácido de minas.
  65. Hoyos, Carolina. (2005). Fitorremediación de metales pesados presentes en el suelo de la ladera del río Bogotá. Tesis de pregrado (Ingeniero Ambiental) Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
  66. Chang, Y., Kwon, Y., Kim, S., Lee, I., Bae, B. (2004). Enhanced Degradation of 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) in a Soil Column Planted with Indian Mallow (*Abutilon avicennae*). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97, (2), 99-103.
  67. Ro, K.S., Venugopal, A., Adrian, D.D., Constant, D., Qaisi, K., Valsaraj, K.T., Thibodeaux, L.J., Roy, D. (1996). Solubility of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in water. *Journal of Chemical Engineering*, 41, 758-761.
  68. Esteve-Núñez, A., Caballero, A., Ramos, J.L. (2001). Biological Degradation of 2,4,6-Trinitritilene. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65, (3), 335-352.
  69. Ramos, J.L., González-Pérez, M.M., Caballero, A., van

- Dillewijn, P. (2005). Bioremediation of polynitrated aromatic compounds: plants and microbes put up a fight. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 275-281.
70. Gray, B. (1997). Landmines: "The most toxic and widespread pollution facing mankind". Recuperado el 17 de Julio de 2006, del Sitio Web del Edmonton Community Networks: <http://ecn.ab.ca/~puppydog/bgray.htm>
  71. Torres-Nachón, C. (2005). Environmental Aspects of Landmines. Recuperado el 17 de Julio de 2006, del Sitio Web de International Campaign to Ban Landmines: [http://www.icbl.org/resources/document/lm\\_environment.php3](http://www.icbl.org/resources/document/lm_environment.php3)
  72. Sala de Prensa UNICEF. (s.f.). Recuperado el 25 de Febrero de 2006, de <http://www.unicef.org.co/newsletter/mayo-05/pop-news-mayo-05-04.htm>
  73. Por qué la campaña ¡No más minas antipersona!. (s.f.). Recuperado el 17 de Julio de 2006, del Sitio Web del Programa Presidencial de Derechos Humanos y Derecho Internacional Humanitario de la Vicepresidencia de la República de Colombia: <http://www.derechoshumanos.gov.co/minas/descargas/infogeneral.doc>
  74. Berhe, A.A. (2005). Politicizing Indiscriminate Terror: Imagining an Inclusive Framework for the Anti-Landmines Movement. *The Journal of Environment & Development*, 14, (3), 375-393
  75. Schnoor, J.L., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L., Carreira, L.H. (1995). Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental Science and Technology*, 29, 318-323.
  76. Rodgers, J.D., Bunce, N.J. (2001). Treatment methods for remediation of nitroaromatic explosives. *Water Research*, 35, (9), 2101-2111.
  77. French, C.F., Rosser, S.J., Davies, G.J., Nicklin, S., Bruce, N.C. (1999). Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing PETN reductase. *Nature Biotechnology*, 17, 491-495.
  78. Hannink, N., Rosser, S.J., French, C.E., Basran, A., Murray, J.A.H., Nicklin, S., Bruce, N.C. (2001). Phytodetoxification of TNT by transgenic plants expressing a bacterial nitroreductase. *Nature Biotechnology*, 19, 1168-1172.
  79. Adamia, G., Ghoghberidze, M., Graves, D., Khatisashvili, G., Kvesitadze, G., Lomidze, E., Ugrehelidze, D., Zaalishvili,

- G. (2006). Absorption, Distribution, and Transformation of TNT in higher Plants. *Exotoxicology and Environmental Safety*, 64, (2), 136-145.
80. Conservación y Uso de Soya Forrajera para la Alimentación de Rumiantes en la Orinoquía Colombiana. (s.f.). Recuperado el 11 de Marzo de 2006, de [http://www.turipana.org.co/conservacion\\_soya.htm](http://www.turipana.org.co/conservacion_soya.htm)
81. Macek, T., Macková, M., Káš. (2000). Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnology Advances*, 18, 23-34.
82. Knox, A.S., Seaman, J., Adriano, D.C. (2000). Chemophytostabilization of Metals in Contaminated Soils. En Wise, D.L., Trantolo, D.J., Chichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U. (Eds.). *Bioremediation of Contaminated Soils* (pp. 787-809). New York, EE.UU: Marcel Dekker, Inc.