

SOLOS E ÁGUA: FONTES (ESGOTÁVEIS) DE VIDA E DE DESENVOLVIMENTO

LIVRO DE ATAS

VII CONGRESSO IBÉRICO DAS
CIÊNCIAS DO SOLO (CICS 2016)

VI CONGRESSO NACIONAL DE
REGA E DRENAGEM





Ficha técnica

<i>Título:</i>	Solos e Água: fontes (esgotáveis) de vida e de desenvolvimento
<i>Editores:</i>	Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo (SPCS)
<i>Autores:</i>	Comissão Editorial do VII CICS 2016 / VI CNRD
<i>Sugestão de citação:</i>	Comissão Editorial do VII CICS 2016 / VI CNRD. 2016. Solos e Água: fontes (esgotáveis) de vida e de desenvolvimento. Livro de Actas do VII Congresso Ibérico das Ciências do Solo (CICS 2016) / VI Congresso Nacional de Rega e Drenagem, 13-15 de Setembro de 2016, Instituto Politécnico de Beja, Beja (p.422).
<i>Concepção gráfica e paginação:</i>	Paulo Marques
<i>Tipo de suporte:</i>	Eletrónico
<i>Detalhe do suporte:</i>	PDF
<i>Edição:</i>	1ª Edição
<i>Data:</i>	Setembro de 2016
<i>ISBN:</i>	978-989-99665-0-5

ISBN 978-989-99665-0-5



Comunicações apresentadas no "VII Congresso Ibérico das Ciências do Solo (CICS 2016) / VI Congresso Nacional de Rega e Drenagem" que decorreu no Instituto Politécnico de Beja de 13 a 15 de Setembro de 2016.

Comissão Editorial do VII CICS 2016 / VI CNRD

Carlos Alexandre (ICAAM, Universidade de Évora, SPCS)
Gonçalo Rodrigues (Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio)
Henrique Ribeiro (Instituto Superior de Agronomia, U. Lisboa, SPCS)
Isabel Guerreiro (Instituto Politécnico de Beja)
Maria da Conceição Gonçalves (INIAV, I. P., SPCS)
Paula Alvarenga (Instituto Politécnico de Beja)
Paulo Chaveiro (CM Reguengos de Monsaraz, APRH)
Pedro Oliveira e Silva (Instituto Politécnico de Beja)
Sofia Ramôa (Instituto Politécnico de Beja)
Tiago Ramos (MARETEC, Instituto Superior Técnico, U. Lisboa, SPCS)



Fitoextracción asistida por ramnolípidos de suelos contaminados con Cu

Assisted phytoextraction by rhamnolipids of Cu contaminated soils

Madrid, F. ^{1*}, Carvajal, S. ², Florido M.C. ², Morillo E. ¹

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla. IRNAS-CSIC. Apto. 1052, 41080 Sevilla. España. *email: fmadrid@irnase.csic.es

² Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km. 1. 41013 Sevilla. España.

Resumen

La fitoextracción de elementos potencialmente tóxicos (EPTs) es una técnica de recuperación de suelos medioambientalmente atractiva debido a que no precisa de excavaciones y transporte del suelo. Además, el uso de plantas hace que visualmente afecte muy poco al paisaje. Sin embargo la baja biodisponibilidad de los EPTs, hace que su aplicación sea muy reducida en suelos reales contaminados. Este trabajo presenta los estudios preliminares de la adición de ramnolípidos a 2 suelos con distintas propiedades contaminados con Cu para aumentar la disponibilidad del metal, y así incrementar la efectividad de la fitoextracción. Esta técnica se denomina fitoextracción asistida por quelatos. Los ramnolípidos son compuestos naturales de baja toxicidad con características biosurfactantes.

En este ensayo no se ha encontrado un efecto positivo de la aplicación de ramnolípidos a una dosis de 1 g kg⁻¹ en la capacidad de acumulación de Cu de dos cultivos, cebada y mostaza parda, así como tampoco se ha observado efecto incrementando la disponibilidad de metales en suelo. Esto parece indicar que el efecto de los ramnolípidos en el aumento de la capacidad de extracción de Cu en suelo es insuficiente para ser aplicados como sustancias que favorezcan la eficacia de la fitorecuperación asistida de Cu en suelos contaminados.

Palabras clave: Fitoextracción, ramnolípidos, suelo contaminado, cobre.

Abstract

Phytoextraction of Potentially Toxic Elements (PTEs) is a friendly soil restoration technique. It is environmentally attractive because excavation and soil transportation are not needed. Furthermore, plant use usually have a positive impact on the landscape. Nevertheless, low bioavailability of most PTEs, reduce drastically its real application in soil contamination. This research shows preliminary results of the addition of rhamnolipids to two Cu contaminated soils to increase metal availability, in order to get better results in soil phytoextraction. This technique is known as chelate assisted phytoextraction. Rhamnolipids are natural compounds showing low toxicity and biosurfactant characteristics.

In this research a positive effect of rhamnolipids application (1 g kg⁻¹ soil) on soil Cu extraction by two different crops (barley and Indian mustard) have not been observed. Similarly, increases in Cu soil bioavailability neither have been observed. It seems to indicate that the effect of rhamnolipids on the increases of Cu extractable content are not enough for using them as chelating agents to improve soil phytoextraction of Cu contaminated soils.

Keywords: Phytoextraction, rhamnolipids, contaminated soil, copper.

Introducción

La contaminación de suelos por elementos potencialmente tóxicos (EPTs) es un problema medioambiental ampliamente extendido. El uso de plantas para la recuperación de estos suelos (fitorrecuperación), se presenta como una alternativa mediamambientalmente atractiva, debido a que se puede realizar *in situ*, sin necesidad de excavar y transportar el suelo, evitando un importante coste económico y daños a la estructura del suelo. La fitorrecuperación tiene distintas alternativas. Una de ellas es la fitoextracción, donde se pretende que las plantas extraigan el contaminante del suelo a través de las raíces y lo transporten a la parte aérea de la planta. Sin embargo, muchos contaminantes presentan una baja biodisponibilidad, lo que imposibilita una adecuada extracción por la planta. Así pues se ha desarrollado una variante de esta técnica, que es la fitoextracción asistida, en la que se añaden al suelo compuestos que aumenten la biodisponibilidad del contaminante, haciéndolo más accesible para la planta. En este caso, el compuesto a usar debe ser medioambientalmente inocuo, y no formar compuestos que provoquen una lixiviación del contaminante a horizontes inferiores del suelo.

El objetivo de este estudio es conocer el efecto de compuestos biodegradables y de origen natural (ramnolípidos), en el proceso de fitoextracción de Cu en suelos contaminados. Los ramnolípidos son sintetizados por la bacteria *Pseudomonas Aeruginosa* durante su metabolismo. Se ha demostrado que los ramnolípidos son capaces de formar complejos estables con diferentes metales, y que aumentan la extracción de metales en procesos de lavado de suelos contaminados [1-3]. Este compuesto se ha añadido a un suelo contaminado artificialmente con Cu, y se ha estudiado el crecimiento de dos especies de plantas, observando la capacidad extractiva de cada planta en presencia y ausencia del ramnolípido.

Material y métodos

Se han utilizado dos tipos de suelo de distintas características físico-químicas, que

están descritos en la Tabla 1.

Tabla 1 – Características de los suelos

SUELOS	CORIA	CONST
pH	7,87	7,93
Mat. Orgánica (%)	1,13	1,91
Carbonato (%)	3,0	1,1
Arena (%)	72,6	50,4
Limo (%)	7,0	39,3
Arcilla (%)	20,4	10,2

Ambos suelos se contaminaron con Cu un mes antes de la siembra, por adición de una disolución de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ suministrado por Panreac (España). Se estudió el efecto de dos concentraciones de Cu en los suelos, 500 y 1000 mg kg^{-1} .

Los cultivos seleccionados han sido la cebada (*Hordeum vulgare*) y mostaza parda (*Brassica juncea*). No son plantas hiperacumuladoras, pero ambas son conocidas como plantas resistentes y tolerantes a contenidos en suelo medio-altos de metales. Las plantas crecieron en macetas de 15 cm de alto y 5 de ancho, con 350 gramos de suelo. El tiempo total de crecimiento de las plantas fue de 30 días.

El ramnolípido, denominado JBR-425, ha sido suministrado por Jeneil Biosurfactants (Texas, Estados Unidos). Es una mezcla al 25% en peso de un monoramnolípido y un di-ramnolípido (Figura 1), en proporciones equimolares. El ramnolípido se adicionó a los cultivos 15 días después de la siembra teniendo en cuenta el peso de suelo de la capa de los primeros 5 cm, a una concentración de 1000 mg kg^{-1} . Se presupone que en esta capa es donde se produce el mayor efecto de las raíces de las plantas, principalmente en el caso de la Brassica, que presenta un menor crecimiento radicular.

Las macetas recibieron una fertilización de fondo de con el abono ABOFOL-L suministrado por Syngenta (España).

Al final del ensayo se determinó la biomasa de las plantas, el contenido en Cu de las mismas, y la disponibilidad del Cu en suelo por dos métodos distintos, extracción con CaCl_2 y con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

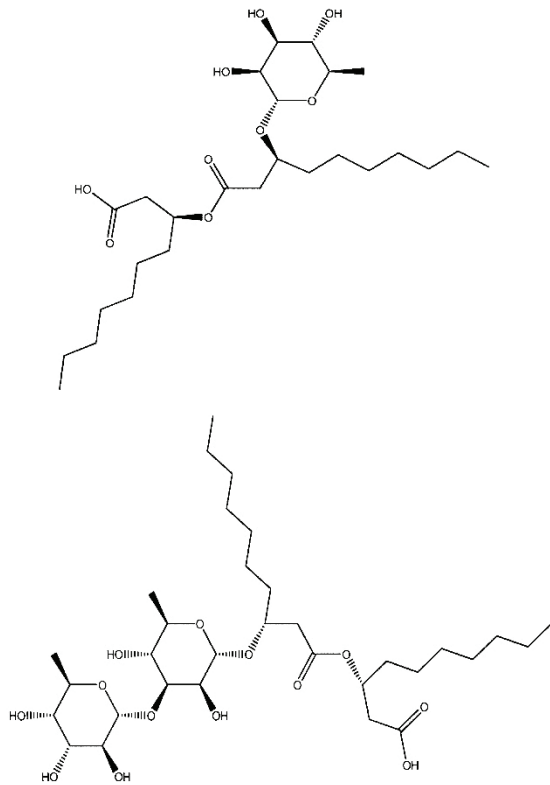


Figura 1 – Componentes del JBR-425. Mono-ramnolípido (A) y di-ramnolípido (B).

Resultados y discusión

Los datos de crecimiento de las plantas se presentan en las Tablas 2 y 3.

En el suelo CORIA no se encontraron diferencias estadísticas atribuibles a los tratamientos, aunque se observa que el menor peso de planta se produjo en los tratamientos con un nivel de contaminación de Cu de 1000 mg kg⁻¹, lo que parece poner de manifiesto la influencia negativa del contaminante a estos niveles más elevados. La dosis de JBR-425 utilizada no influyó en el crecimiento de las plantas.

Tabla 2 – Peso (g) de las plantas en el suelo CORIA tras la cosecha (para cada planta, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada	Mostaza
Control	1,92 a	1,38 ab
Control+JBR	1,72 a	1,37 ab
Cu-500	2,14 a	1,34 ab
Cu-500+JBR	1,92 a	1,57 b
Cu-1000	1,68 a	1,18 ab
Cu-1000+JBR	1,66 a	0,68 a

Sin embargo, en el suelo CONST sí se observó claramente un efecto negativo y

progresivo del nivel de contaminación de Cu sobre el crecimiento de ambas especies de plantas. Además en este suelo en el caso de la mostaza en los tratamientos contaminados con Cu, también se observa un efecto negativo del JBR-425, presentando menor biomasa los tratamientos con este ramnolípido.

Tabla 3 – Peso (g) de las plantas en el suelo CONST tras la cosecha (para cada planta, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada	Mostaza
Control	3,89 c	2,44 b
Control+JBR	3,38 c	2,32 b
Cu-500	2,02 b	2,01 b
Cu-500+JBR	1,96 b	0,54 a
Cu-1000	1,15 a	0,34 a
Cu-1000+JBR	0,99 a	0,08 a

Los datos de fitoextracción del metal se presentan en las tablas 4 y 5. En el caso de la cebada, se observa un incremento en la media de Cu extraído en los tratamientos contaminados, aunque en el suelo CORIA la diferencia no fue significativa. Por otro lado en ninguno de los dos suelos hay influencia apreciable del ramnolípido, que parece no haber influido en la absorción del Cu por la planta.

Tabla 4 – Concentración de Cu en planta (mg kg⁻¹) y cantidad de Cu extraído (µg maceta⁻¹) al final del experimento en el suelo CORIA (para cada planta, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada		Mostaza	
	Conc.	Extraído	Conc.	Extraído
Control	18,9 a	6,31 a	22,0 a	4,3 a
Control+JBR	19,4 a	5,33 a	26,7 a	3,1 a
Cu-500	28,0 a	8,09 a	167 c	20,7 c
Cu-500+JBR	27,5 a	8,05 a	166 c	20,3 bc
Cu-1000	24,6 a	6,29 a	108 b	15,1 bc
Cu-1000+JBR	21,9 a	5,93 a	138 bc	10,4 ab

En el cultivo de mostaza, las diferencias debido al contenido de Cu en suelo fueron superiores a la cebada, mostrando una mayor capacidad de absorber el metal. Sin embargo, en el tratamiento con mayor cantidad de Cu, afectó al crecimiento de la planta, y así en el suelo CONST no hubo biomasa suficiente para poder ser analizada. Al igual que en el cultivo de cebada, tampoco

se mostró una influencia significativa debido a la presencia del ramnolípido JBR-425.

Tabla 5 – Concentración de Cu en planta (mg kg^{-1}) y cantidad de Cu extraído ($\mu\text{g maceta}^{-1}$) al final del experimento en el suelo CONST (para cada planta, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada		Mostaza	
	Conc.	Extraído	Conc.	Extraído
Control	12,2 a	6,21 ab	10,2 a	2,4 a
Control+JBR	11,5 a	5,15 a	9,9 a	2,3 a
Cu-500	24,8 b	7,8 bc	62,6 b	8,4 b
Cu-500+JBR	27,0 b	8,54 c	94,0 c	21,5 c
Cu-1000	27,6 b	5,87 ab	--	--
Cu-1000+JBR	24,7 b	4,84 a	--	--

-- Sin biomasa suficiente para cuantificar.

La biodisponibilidad de Cu en ambos suelos al final del ensayo por extracción con CaCl_2 y con EDTA se presenta en las tablas 6 y 7.

Tabla 6 – Biodisponibilidad de Cu (mg kg^{-1}) medida por extracción con CaCl_2 y EDTA para cada cultivo en el suelo CORIA al final del experimento (para cada columna, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada		Mostaza	
	CaCl_2	EDTA	CaCl_2	EDTA
Control	0,20 a	31,5 a	0,23 a	35,3 a
Control+JBR	0,21 a	30,3 a	0,21 a	35,3 b
Cu-500	1,83 ab	389 b	0,64 b	421 b
Cu-500+JBR	1,52 ab	394 b	0,70 bc	421 b
Cu-1000	2,73 b	756 c	0,87 d	887 c
Cu-1000+JBR	3,06 b	847 d	0,84 cd	928 c

En ninguno de los 2 métodos se observa influencia del ramnolípido en la biodisponibilidad de Cu a ninguna de las concentraciones de metal estudiadas, observándose tan sólo diferencias entre los distintos niveles de contaminación de Cu.

Tabla 7 – Biodisponibilidad de Cu (mg kg^{-1}) medida por extracción con CaCl_2 y EDTA para cada cultivo en el suelo CONST al final del experimento (para cada columna, datos seguidos de la misma letra no se diferencian estadísticamente, $p < 0.05$).

	Cebada		Mostaza	
	CaCl_2	EDTA	CaCl_2	EDTA
Control	0,12 a	4,08 a	0,16 a	4,35 a
Control+JBR	0,10 a	4,35 a	0,17 a	3,78 a
Cu-500	2,49 b	268 b	2,59 b	304 b
Cu-500+JBR	1,84 b	302 b	3,46 b	307 b
Cu-1000	12,6 c	526 c	17,7 c	565 c
Cu-1000+JBR	13,1 c	570 c	12,5 c	561 c

Conclusiones

El ramnolípido JBR-425 no ha conseguido incrementar la cantidad de Cu extraído de suelos por los cultivos de cebada y mostaza parda. Por lo tanto, no parece ser un agente eficaz que pueda ser utilizado en técnicas de fitoextracción asistida en suelos contaminados con Cu.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido realizado en el marco del proyecto CTM2013-42599-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España.

Referencias bibliográficas

- [1] Madrid F, Florido MC, Undabeytia T, Morillo E, 2013. Uso de sustancias naturales biodegradables para aumentar la disponibilidad en suelo de elementos potencialmente tóxicos. 9th Iberian and 6th Iberoamerican Congress on Environmental Contamination and Toxicology, p. 24.
- [2] Mulligan CN, 2009. Recent advances in environmental application of biosurfactants. *Current Opinion in Colloids and Interface Science* 14: 372-378.
- [3] Ochoa-Loza FJ, Artiola JF, Maier RM. 2001. Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. *J. Environ. Qual.* 30:479-485.