

IDENTIFICACIÓN DE PROCESOS DE BIOACUMULACIÓN DE CROMO EN LA LAGUNA DE SONSO



Ana Hurtado C., Bióloga

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Universidad del Valle, Cali, Colombia.
anitahc@msn.com

Celina Torres G., M.Sc.

Profesora Asociada
Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Universidad del Valle, Cali, Colombia.
celina.torres@correounivalle.edu.co

Enrique J. Peña S., Ph.D.

Profesor Titular
Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Universidad del Valle, Cali, Colombia.
enrique.pena@correounivalle.edu.co

*Recibido: Mayo 10 2010 *Junio 8 2010

RESUMEN

Debido a la creciente contaminación por cromo de la Laguna de Sonso, Valle de Cauca, se han buscado alternativas para generar procesos de bioacumulación de este metal dentro del tejido micelial del hongo *Pleurotus ostreatus* (buchón de agua), utilizando el buchón de agua como sustrato. Se evaluó en laboratorio y en invernadero el comportamiento del hongo *P. ostreatus* en tres concentraciones de cromo (30, 60 y 90 ppm).

En laboratorio se utilizó como medio papa-dextrosa y en invernadero tejido vegetal de la planta bioacumuladora *Eichhornia crassipes*. Tanto en laboratorio como en invernadero, se observó la presencia de cromo, el cual inhibió el crecimiento del hongo. El cromo es un factor limitante para el crecimiento del hongo.

PALABRAS CLAVE

Biorremediación, bioacumulación, *Pleurotus ostreatus*, *Eichornia crassipes*.

ABSTRACT

Due to the growing problem of pollution in the waters of Sonso Lagoon, Valle del Cauca, heavy metals such as chromium was raised an investigation that would identify alternatives for bioaccumulation processes of this metal into the fabric of mycelial fungus Pleurotus ostreatus using the hyacinth water as a base substrate.

The fungus P. ostreatus was evaluated at three different concentrations of chromium (30, 60 and 90 ppm) and a control, for two cases at the laboratory in liquid medium potato-dextrose and level of greenhouse grown in a base substrate plant tissue of the bioaccumulator plant Eichornia crassipes Solms Mart. There was, for the test in laboratory and greenhouse, that the presence of Cr in the middle slowed and inhibited growth of the fungus. Therefore it was concluded that Cr is a limiting factor for the growth of P. ostreatus.

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la fuerte contaminación de las aguas del río Cauca y sus afluentes se ha detectado proliferación del buchón de agua, **Eichhornia crassipes**, en la Laguna de Sonso, condición que limita el desarrollo de la biota de la laguna. Esta masa densa de vegetación flotante obstaculiza el paso de la luz solar y el intercambio de gases con la atmósfera y destruye otras formas de vida vegetal y animal existentes.

Aún con estos efectos negativos el buchón de agua se ha convertido en un elemento de importancia desde el punto de vista de la biorremediación porque posee potencial para capturar metales pesados, tales como arsénico, cadmio, cromo y mercurio, entre otros, en fuentes hídricas contaminadas. De esta manera el buchón juega un papel importante en la descontaminación de la laguna, acumulando los metales, pero a la vez ha generado otros problemas ambientales (Pedraza, 1994). La contaminación por metales pesados en la laguna

requiere alternativas que permitan disminuir la proliferación del buchón de agua y, en forma asociada, la concentración de metales pesados, específicamente de cromo, causante de graves daños al ambiente y a la salud humana debido a su alta toxicidad. Paralelamente el depósito del buchón fuera del agua en la orilla de la Laguna conlleva a su descomposición, liberando los metales acumulados (Tapia, 2002).

A fin de conocer la capacidad de biorremediación del hongo *Pleurotus ostreatus* se ha propuesto retirar el buchón de agua de la laguna para ser utilizado como sustrato para el cultivo de este hongo y, de esta forma, analizar la capacidad de bioacumulación, como una alternativa para mantener el cromo aislado del agua y el suelo. La adopción de tecnologías biológicas conduce a la conservación de áreas naturales y a su restablecimiento (Rodríguez, 2005).

En esta investigación se analizó el comportamiento in vitro del hongo *P. ostreatus* con concentraciones de (Cr^{6+}) similares a las de los sedimentos de la Laguna (30, 60 y 90 ppm) y a nivel de invernadero, en donde se preparó un sustrato a base de buchón de agua tratado con idénticas concentraciones de Cr^{6+} (30, 60 y 90 ppm) con el propósito de observar si *P. ostreatus* crece y desarrolla cuerpos fructíferos en este sustrato con cromo y determinar si puede extraer y acumular el metal en sus estructuras (Favero, 1990).

2. METODOLOGÍA

Se evaluó el comportamiento del hongo *Pleurotus ostreatus* a partir del crecimiento micelial en sustratos con cromo (VI), con el fin de determinar su utilidad dentro de procesos de biorremediación, que expliquen la bioacumulación del metal pesado.

2.1. MULTIPLICACIÓN DEL HONGO

Una cepa pura del hongo *Pleurotus ostreatus* se multiplicó en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y se incubó a 25°C de temperatura por 15 días.

Análisis del crecimiento de *P. ostreatus* en medio líquido in vitro

Se realizó un ensayo a nivel de laboratorio con el fin de determinar la capacidad del hongo *P. ostreatus* para crecer en medio líquido con diferentes concentraciones de cromo.

Se utilizó medio líquido con Papa-dextrosa en agua destilada. El medio se dividió en tres tratamientos

equivalentes a concentraciones de 30, 60 y 90 ppm de Cr^{6+} obtenido a partir de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Cada concentración tuvo cinco repeticiones y un control (Tabla 1). Los tratamientos se mantuvieron a 25 °C por 30 días.

Tabla 1. Peso de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) utilizado para la preparación de los tratamientos en medio líquido para el análisis *in vitro*

Tratamiento	Concentración de Cromo ppm	Repeticiones	Peso de ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) mg
1	30	5	26,24
2	60	5	56,48
3	90	5	84,72
Control	0	5	00,0

Análisis del crecimiento del micelio de *P. ostreatus* en medio líquido con concentraciones de Cr^{6+} de 30, 60 y 90 ppm

Se realizaron observaciones cada cinco días en todos los tratamientos y el control para determinar el crecimiento micelial de *P. ostreatus*, el cual se identificó por la aparición de una masa blanca de textura algodonosa en la superficie del medio, con crecimiento de tipo radial.

2.2. PREPARACIÓN DE SUSTRATOS A BASE DE EICHHORNIA CRASSIPES

Recolección del material vegetal

La planta acuática Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) se colectó en la Laguna de Sonso, Valle del Cauca, ubicada sobre la margen derecha del río Cauca, entre los municipios de Buga, Yotoco y Guacarí. Las plantas sanas de 30 cm de longitud se seleccionaron de la orilla de la Laguna.

El material colectado se lavó con agua corriente con el fin de desprender restos de sedimento de la laguna. Se colocaron en recipientes plásticos con agua corriente y se dejaron reposar por ocho días para liberar el exceso de metales contenidos en el tejido.

Tratamiento de Buchón de agua (*E. crassipes*) con diferentes concentraciones de cromo

Se prepararon 10 acuarios con capacidad para 25 litros, los cuales se llenaron con 20 litros de agua corriente y a cada uno se le agregó la cantidad de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) correspondiente según el tratamiento. (Foto1).



Figura 1. Acuarios de vidrio con tratamientos de cromo a 30, 60 y 90 ppm.

Los acuarios se dividieron, según se muestra en la Tabla 2, para el número de tratamientos con cromo. Las concentraciones de cromo para los tratamientos se calcularon con base en datos obtenidos en estudios preliminares en la Laguna de Sonso por (Calero, comunicación personal) (Tabla 2).

Tabla 2. Pesos de dicromato de potasio utilizados para la preparación de los tratamientos para las plantas de *E. crassipes*.

Tratamiento	Concentración de Cromo ppm	Repeticiones	Peso de ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) mg
1	30	3	1696,14
2	60	3	3392,2
3	90	3	5088,4
Control	0	1	0,0

En cada acuario se colocaron un total de 11 plantas sanas de buchón de agua. Las plantas permanecieron en los acuarios con los diferentes tratamientos por un periodo de ocho días (Foto 2).



Figura 2. Tratamientos de Buchón de agua, *E. crassipes*, a diferentes concentraciones de cromo.

Ocho días después se tomó una muestra de 10 gramos en peso seco de material vegetal por cada tratamiento con el fin de realizar un análisis químico por el método de llama en el Laboratorio de Análisis Químico e Industrial de la Facultad de Ciencias de la Universidad del Valle para calcular la cantidad de cromo absorbido por las plantas.

El material restante fue extraído de los acuarios y se cortó en trozos de entre 1 y 3 cm², incluyendo hojas, tallo y raíces de las plantas. El material fue colocado en bolsas de polietileno de alta densidad y posteriormente se llevó a autoclave por 15 minutos a 121°C y 15 atmósferas de presión con el fin de eliminar los microorganismos presentes en el material.

Se prepararon 40 bolsas con material vegetal en las cuales se sembró el hongo **P. ostreatus**. Se realizaron cuatro tratamientos con diez repeticiones (Tabla 3).

Tabla 3 Distribución de matrices por tratamiento.

Tratamiento ppm	Repeticiones
30	10
60	10
90	10
Control	10

En cada una de las bolsas se depositaron 10 fragmentos del micelio de *P. ostreatus*. Los tratamientos se incubaron por un periodo de 60 días.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE *P. ostreatus* IN VITRO

El control mostró desarrollo micelial abundante de textura afelpada sobre la superficie del medio líquido. Después de diez días el hongo presentó un diámetro de 4.0 cm.

Los tratamientos con concentraciones de Cr⁶⁺ de 30, 60

y 90 ppm no evidenciaron crecimiento micelial después de diez días de inoculados.

Se realizó una segunda evaluación después de 30 días de la inoculación. Los resultados mostraron crecimiento micelial abundante en el control. No se observó crecimiento en los tratamientos con cromo (30,60 y 90 ppm). El comportamiento observado en los análisis de crecimiento in vitro indican que *P. ostreatus* no es tolerante a las concentraciones de cromo utilizadas (30, 60 y 90 ppm), puesto que no se observó ninguna señal de crecimiento del micelio. Sin embargo, ésta no constituye una prueba definitiva, ya que si bien los experimentos con metales pesados en medios líquidos proveen datos útiles acerca de la capacidad del hongo para la captura de estos metales, éstos no reflejan con exactitud la situación en la naturaleza. Es decir, el comportamiento del hongo podría variar con respecto a otras condiciones en donde sí podría observarse crecimiento y desarrollo del hongo.

Concentraciones de cromo acumuladas por la planta *E. crassipes* a partir de los tratamientos a diferentes concentraciones del metal

Las plantas de *E. crassipes* sometidas a los tratamientos con cromo de 30,60 y 90 ppm mostraron un buen crecimiento en los acuarios, pues no se observaron plantas con hojas secas, amarillas o plantas muertas. Los análisis químicos realizados al tejido de las plantas con el fin de determinar la presencia de cromo demostraron que hubo absorción y acumulación del metal por parte de las plantas. Las cantidades absorbidas se pueden observar en la Tabla 5.

Los resultados permiten verificar que el tejido utilizado como sustrato a partir de estas plantas fue portador de cantidades significativas de cromo, aptas para realizar los tratamientos.

Sin embargo, como se puede observar para el control, el tejido de las plantas conservó una cantidad de 18.7 mg/L de cromo, a pesar del tiempo (16 días) que las plantas se mantuvieron en reposo con agua limpia.

El buchón de agua presenta una gran capacidad acumulativa de cromo, lo cual se ha demostrado en otros estudios (Faisal *et al.* 2003), en los cuales se ha

Tabla 5. Cantidad de cromo absorbido por las plantas de *E. crassipes* sometidas a 30, 60 y 90 ppm de Cr⁶⁺.

Determinación	Control	30 ppm de Cr ⁶⁺	60 ppm de Cr ⁶⁺	90 ppm de Cr ⁶⁺	Método
Cromo en ppm (mg/L)	18.7 ± 1.0	2292.6 ± 101,4	3043 ± 67.8	4832,4 ± 22.2	A:A Llama
	CV=3.9 n=2	CV=3.2 n=2	CV=1.6 n=2	CV=0.3 n=2	

observado que las plantas toleran fácilmente concentraciones hasta de 2000mg de cromo sin síntomas visibles de la toxicidad del metal, al igual que lo observado en esta investigación. Lo anterior se debe a la capacidad genética que tiene el buchón de agua como planta fitoextractora para interceptar, absorber y acumular los metales en sus estructuras (Lasat, 2002).

Como se observa en la Tabla 5 las cantidades de cromo absorbidas por las plantas de *E. crassipes* aumentaron con respecto a la cantidad de cromo en el medio; esto se debe a que la toma de metal por esta planta es dependiente de la concentración (Faisal op. cit.), de manera que si aumenta la concentración inicial del cromo en el medio también aumenta la captura y la acumulación de éste por parte del buchón de agua.

Crecimiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* en unidades de tejido de *Eichornia crassipes* con diferentes concentraciones de cromo

En el control se observó un leve crecimiento del micelio de 6 a 8 cm de diámetro sobre una porción del sustrato; éste fue de color blanco opaco con apariencia delgada y pobre, el cual creció de forma irregular, dejando zonas intermedias sin crecimiento de hifas. Este comportamiento se observó en cuatro repeticiones del control desde el día 8 hasta el día 12, a partir del cual el micelio adquirió una apariencia seca y detuvo su crecimiento. En los tratamientos con 2292.6 y 3043 mg/L de cromo se desarrolló un micelio pobre y delgado de color blanco, con crecimiento irregular de tres a cuatro cm de diámetro sobre una porción del sustrato. Esto se observó en tres unidades al cabo del día 15; a partir del día 18 el micelio detuvo su crecimiento, adquiriendo una apariencia de color pardo y una textura seca.

En el tratamiento correspondiente a las unidades con 4832.4 mg/L de cromo no hubo crecimiento de micelio en ninguna de las unidades (Tabla 6).

Comportamiento del hongo *P. ostreatus* al ser inoculado sobre sustratos con presencia de cromo.

Se consideró como medida de evaluación del comportamiento del hongo el crecimiento del micelio, debido a que éste es el fenómeno complejo más utilizado para estudiar la toxicidad de los metales pesados (Baldrian, 2002).

Los datos obtenidos de las medidas de crecimiento del micelio de *P. ostreatus* sobre el sustrato de buchón de agua con diferentes concentraciones de cromo (2292.6, 3043 y 4832.4 mg/l) no presentaron una distribución normal, según la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov. Posteriormente, el contraste unilaterial de Kruskal-Wallis indicó que no existen diferencias significativas entre los promedios de los crecimientos del micelio en las diferentes concentraciones de Cr^{6+} (2292.6, 3043 y 4832.4 mg/L).

Es necesario resaltar que el hongo *P. ostreatus* se comportó diferente de acuerdo con el sustrato sobre el cual se inoculó. Aunque no creció en las pruebas in vitro con medio líquido a base de almidón de papa, en invernadero sí mostró un crecimiento muy leve en algunas de las unidades del control y los tratamientos con 2292.6 y 3043mg/l de Cr^{6+} . Estos resultados pueden deberse en parte a las diferencias no sólo nutritivas entre los sustratos (papa dextrosa Vs buchón de agua) sino a las diferencias de Cr^{6+} contenidas en los medios.

En los análisis in vitro el cromo de los tratamientos se hallaba en relación con los promedios de cromo contenidos en los sedimentos de la Laguna de Sonso, de manera que el análisis indicó el comportamiento del hongo al ser sometido directamente a las concentraciones de cromo presentes en el sedimento cuando éste presenta contenidos del metal pesado en cantidades medias (60 ppm), altas (90 ppm) y bajas (30ppm),

*Tabla 6. Medidas del crecimiento (en cm) del micelio del hongo *P. ostreatus* sobre los sustratos a base de *E. crassipes* con diferentes concentraciones de cromo.*

Repetición	Control	2292.6 mgL de Cr	3043 mgL de Cr	4832.4 mgL de Cr
1	8	3	3	0
2	7	4	3	0
3	8	4	3	0
4	6	4	3	0
5	6	4	3	0
6	6	4	3	0
7	6	4	3	0
8	6	4	3	0
9	6	4	3	0
10	6	4	3	0

arrojando como resultado la ausencia de crecimiento de *P. ostreatus*.

En los análisis sobre el sustrato a base de *E. crassipes* las concentraciones de Cr^{6+} fueron diferentes debido a que dependieron de la capacidad de la planta para acumular el metal. Este ensayo indica el comportamiento del hongo si se utiliza buchón sacado de la Laguna de Sonso como sustrato para su crecimiento, cuando éste haya acumulado diferentes cantidades de cromo relativas al contenido alto, medio y bajo de este metal pesado en la Laguna.

PEI el hongo *leurotus ostreatus* ha demostrado tener la capacidad de acumular metales pesados, como cadmio (Favero *et al* op. cit.), cobre (Baldrian P. op. cit.) y plomo (Rodríguez op. cit.), pero los resultados obtenidos en esta investigación indican que con respecto al cromo el hongo presenta un comportamiento distinto, según Baldrian P. (op. cit.) Esto puede explicarse probablemente debido a que la preferencia de los hongos por metales pesados individuales es especie-específica. No es sorprendente que diferentes especies de hongos de pudrición blanca difieran en el grado de su tolerancia a los metales pesados. Según Palmans *et al.* (citado por Baldrian P. (op. cit.)) *T. vesicolor* mostró desarrollo y, por lo tanto, resistencia frente a los metales Cd, Zn, Ni, Co, **Cr**, Mo, Pb, Hg, y Sn, mientras que *A. mellea*, *Lentinus sp.*, *Pholiota nameko*, ***Pleurotus sp.***, *Pycnoporus sanguineus* y *S. comune* mostraron ser claramente menos resistentes debido a que su desarrollo se vio retardado o inhibido.

El crecimiento de micelio de *P. ostreatus* observado en algunas de las unidades de los tratamientos con tejido de *E. crassipes* indica que el hongo inició su desarrollo sobre el sustrato, pero que debido a una interacción con el Cr^{6+} detuvo su crecimiento.

Los hongos de pudrición blanca, como *Pleurotus*, poseen la capacidad de secuestrar trazas esenciales de iones de metal de varios medios, donde pueda estar presente en concentraciones desde traza hasta niveles tóxicos. Sin embargo, estos hongos poseen un problema específico, porque el desarrollo fungal puede ser inhibido por algunos iones de metales pesados. Baldrian P. (op. cit.) indica que los metales pesados como el cromo, presentes en el ambiente, pueden interactuar directamente con las enzimas extracelulares del hongo y, a su vez, pueden causar una respuesta fisiológica si los metales son tomados por el hongo.

Los efectos tóxicos del cromo observados en el hongo

P. ostreatus a nivel de cambios morfológicos deben explicarse a partir de la entrada del metal en la célula fúngica, ya que una vez adentro este metal pesado puede afectar tanto reacciones individuales como procesos metabólicos complejos.

Sin embargo, los mecanismos moleculares de acumulación de metales pesados por hongos de pudrición blanca no han sido estudiados. En otras especies de hongos, los sistemas transportadores para la toma de metales esenciales se encuentran en la membrana celular. Los no esenciales usualmente son cotransportados usando los mismos transportadores debido a su baja especificidad. La toma depende parcialmente del potencial de la membrana, luego el metal pesado es enlazado a un transportador de calcio. En el nivel subcelular, 50% del metal se encuentra unido a la pared celular, 30% permanece en el citoplasma y 20% es transportado dentro de las vacuolas.

Los cambios en la morfología del micelio de *P. ostreatus* se caracterizaron por crecimiento irregular con ausencia de hifas en algunos segmentos y apariencia reseca. Estos efectos se pueden explicar desde el punto de vista de la toxicidad de los metales pesados como el Cr^{6+} en las enzimas extracelulares. En éstas se desarrolla un complejo metabólico energético de actividad degradadora de celulosa, hemicelulosa y lignina. Estas enzimas, producidas en el ambiente extracelular, a menudo muestran altas concentraciones de metales debido a que éstas no son protegidas por los mecanismos de detoxificación de metales asociados a las células (Baldrian P. op. cit.). Por lo tanto, al verse afectadas por los efectos oxidativos de los iones de cromo hexavalente, la actividad degradadora de estas enzimas extracelulares en el sustrato disminuyó, afectando directamente el desarrollo del micelio de *P. ostreatus*.

El Cr^{6+} , por ser un metal pesado, pudo comportarse como un potente inhibidor de las reacciones enzimáticas del hongo *P. ostreatus*. Un ejemplo de esto son los efectos producidos por otros metales pesados como el mercurio, el cual ejerce su efecto tóxico, principalmente al vincularse a los grupos SH presentes en los sitios activos o de regulación enzimática, causando la inactivación irreversible de las enzimas. El cobre y el cadmio también tienen la capacidad de unirse a los residuos de aminoácidos aromáticos en las moléculas enzimáticas, acusando daños oxidativos de las proteínas por la inducción de estrés oxidativo asociado con la producción de oxígeno reactivo como el hidroxyl o radicales superóxidos (Baldrian P. op. cit.), de manera que al entrar en contacto con las enzimas celulares de

P. ostreatus, el Cr^{6+} pudo haber interferido en sus funciones inactivándolas de manera permanente, inhibiendo así el crecimiento del micelio en las unidades.

La ausencia de crecimiento uniforme del micelio, caracterizada por espacios sin crecimiento en medio de las hifas, pudo haberse presentado por permeabilización de la membrana plasmática, lo cual ocasiona el vaciado del contenido citoplasmático y la muerte de las hifas. Este comportamiento se ha observado con otros metales pesados similares al Cr^{6+} , como el cadmio y el cobre, los cuales ejercen su efecto tóxico directamente en la membrana plasmática, donde interfieren con solutos transportadores y otros fenómenos membranales, causando permeabilización de la membrana y cambios en su composición (Baldrian P. op. cit.).

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimientos a la Universidad del Valle, a través de la Vicerrectoría de Investigaciones por la financiación del estudio.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Axtell, C., Johnston C. y Bumpus J. (2000). Bioremediation of Soil Contaminated with Explosives at the Naval Weapons Station Yorktown. *Soil and Sediment Contamination*. 9 /6 : 537-548.
- Baldrian, P. (2002) Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*. 32: 78-91.
- Camargo, F.M., Bento, B.C., Okeke, W.T. y Frankenberger.(2003) Chromate Reduction by Chromium-Resistant Bacteria Isolated from Soils Contaminated with Dichromate. *Journal Environmental Qual.* 32/4 :1228-33
- Faisal, M.y Hasnain, S. (2003). Synergistic removal of Cr (VI) by *Eichornia crassipes* in conjunction with bacterial strains. *Pakistan. Journal of Biological Sciences*. 6/3 : 264-268.
- Favero, N., Bressa, G. y Costa, P. (1990). Response of *Pleurotostreatus* to cadmium exposure. *Ecotoxicology and environment safety*. 20/1: 1-6.
- Gischler, C. (2005). Pathways of heavy metals and implications for stakeholders, Sonso Lagoon, Colombia. Tesis de maestría en Ingeniería Ambiental. Royal Institute of Technology of Sweden.
- Guerra, M. y Duran, M.(2005). Producción de *Pleurotus ostreatus* en residuos de madera y coco en el municipio de Buenaventura, Valle del Cauca. Producción artesanal de hongos comestibles.
- Jauregui, J., Valderrama, B., Albores, A. y Vazquez-Duhalt, R.(2003). Microsomal transformation of organophosphorus pesticides by white rot fungi. *Biodegradation*. 14:397-406.
- Lasat, M. (2002). Phytoextraction of toxic metals. *Journal of Environmental Quality* 31:109-120.
- Llugany, M., Torla, R., Poschnrieder, C. y Barcelo, J. (2007). Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y el hombre? *Ecosistemas Revista de Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*. 2 :1-6.
- Marcovecchio, J.E., Moreno, V.J. and A. Pérez.(1991). Metal accumulation in tissues of sharks from the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Environmental Research*. 31: 263-274.
- Mitch M., (2002). Phytoextraction of Toxic Metals A Review of Biological Mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31:109-12.
- Pedraza. G. X. (1994). Reciclaje del efluente de Origen animal con tres especies de plantas acuáticas. *Livestock Research for Rural Development*. 671: 1-7.
- Rodríguez, K. J. (2005). Eficacia del hongo *Pleurotus ostreatus* como biorremediador de suelos contaminados con metales pesados. Tesis de maestría en ciencias de biología. Universidad de Puerto Rico.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.