



EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE UNA MEZCLA DE OLIGOGALACTURÓNIDOS SOBRE UN SUELO CONTAMINADO CULTIVADO CON PLÁNTULAS DE TOMATE

Effects of the application an oligogalacturonide mixture on a polluted soil cultivated with tomato seedlings

Omar E. Cartaya Rubio^{1✉}, Ana M. Moreno Zamora¹,
Yenisei Hernández Baranda¹, Juan A. Cabrera Rodríguez¹
y Fernando Guridi Izquierdo²

ABSTRACT. It was carried out a rehearsal with a contaminated soil by copper (Cu), in order to evaluate the risk associated to the application of technical of phytoremediation with chelates (Ogal mixture) in these cases. They thought about different situations: normal soil without addition of Ogal (control), polluted soil without addition of Ogal and polluted soil and Ogal concentrations of 20, 40, 60 80 and 100 kg ha⁻¹ respectively. The pseudototal copper content was measured in the soil, pH and organic matter of the soil and longitude (air and underground) of the tomato plants. The results show that the lenght of the plants that grew in a polluted soil without the product application suffered a significant descent with relationship to the control; however, to those that was applied the product, they diminished their lenght, but not so markedly as the previous ones. On the other hand, the cation of the system experiented an increase of their mobility with the presence of the Ogal mixture, being bigger their phytoextration when dose of 60 kg is applied.

Key words: quelatos, fitorremediación, heavy metal, tomato, mobility of elements, oligogalacturonides

RESUMEN. Se realizó un ensayo con un suelo contaminado por cobre (Cu), a fin de evaluar el riesgo asociado a la aplicación de técnicas de fitorremediación con quelatos (mezcla de Ogal) en estos casos. Se plantearon diferentes situaciones: suelo normal sin adición de Ogal (control), suelo contaminado sin adición de Ogal y suelo contaminado y concentraciones de Ogal de 20, 40, 60 80 y 100 kg ha⁻¹ respectivamente. Se midió el contenido de cobre pseudo total en el suelo, pH y materia orgánica del suelo y longitud (aérea y subterránea) de las plantas de tomates. Los resultados muestran que la longitud de las plantas que crecieron en un medio contaminado sin la aplicación de producto sufrieron un descenso significativo con relación al control; sin embargo, a las que se les aplicó el producto, disminuyeron su longitud, pero no tan marcadamente como las anteriores. Por otro lado, los cationes del sistema experimentaron un aumento de su movilidad con la presencia de la mezcla de Ogal, siendo mayor su fitoextracción cuando se aplican dosis de 60 kg ha⁻¹.

Palabras clave: quelatos, fitorremediación, metales pesados, tomate, movilidad de elementos, oligogalacturónidos

INTRODUCCIÓN

Dentro de los graves problemas que enfrenta hoy la humanidad, se encuentra la contaminación acelerada de los suelos y el aire. Toda contaminación trae consigo el deterioro del medio ambiente y, por consiguiente, la imposibilidad de disponer de los recursos naturales con la inocuidad requerida. La contaminación por metales pesados constituye hoy una de las principales fuentes de detrimento del entorno (1).

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700

² Universidad Agraria de La Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

✉ ocartaya@inca.edu.cu

La agricultura no es ajena a esta problemática, debido al uso intensivo de plaguicidas y fertilizantes, así como las prácticas incorrectas de drenaje o de riego. Se debe tener en cuenta, además, el auge alcanzado por la agricultura urbana en los últimos tiempos, en la que se utilizan materiales como sustratos, que pueden incrementar la contaminación de las áreas (2).

Arduos son los intentos por encontrar vías que permitan recuperar los recursos que se encuentran contaminados por metales pesados, fundamentalmente los suelos, fuente inagotable de alimentos. Pero la vía para ello no cobra importancia si los materiales que son utilizados en la descontaminación de los mismos y en la producción de alimentos, continúan siendo agresivos al medio ambiente.

Durante estos años, se ha desarrollado la biorremediación como una posible solución futura a muchos problemas de contaminación, debido a que es considerada, en todo el mundo, como una tecnología innovadora para el tratamiento de residuos tóxicos (3); dentro de esta, se encuentra la fitorremediación, que se basa en el empleo de plantas para limpiar ambientes contaminados, siendo la fitoextracción y la fitoestabilización, las técnicas más aplicadas (4).

Es conocido que uno de los mecanismos de tolerancia más importante utilizado por las plantas para reducir la toxicidad por metales pesados, lo constituye la formación de complejos con ligandos orgánicos. En este sentido, la mezcla de oligogalacturónidos (Ogal) presenta una alta proporción de cargas, lo cual les permite la formación de enlaces con los metales pesados, formando complejos (5, 6). Sin embargo, no está establecido el efecto que pueda existir entre estas moléculas y los iones metálicos, así como tampoco el papel en la detoxificación y en los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas (7, 8).

Por lo que nos trazamos como objetivo, evaluar el efecto de la aplicación de una mezcla de Ogal en la absorción de iones metálicos del suelo, por plántulas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectó suelo clasificado como Ferralítico Rojo Lixiviado (9), en los terrenos pertenecientes al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y se preparó una disolución $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en cantidad equivalente a 700 mg kg^{-1} (suelo) de Cu, añadiéndosela al suelo con siete días de antelación a la siembra de las semillas de tomate de la variedad Amalia.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en el departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del INCA, en un cuarto de luces, manteniéndose en condiciones de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, 12 horas luz de fotoperíodo y una humedad relativa del 40 %, durante 35 días.

La mezcla de Ogal se obtuvo en el INCA, a partir de la hidrólisis enzimática de pectina de la corteza de cítricos, según la metodología propuesta por Cabrera^A, con grado de polimerización (GP) entre 6 y 16 y como planta hiperacumuladora se utilizaron semillas de tomate de la variedad Amalia, germinadas en macetas, cada una con una capacidad de 0,2 kg de suelo. En la Tabla I se muestra la descripción detallada de cada uno de los tratamientos.

Tabla I. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento

Tratamientos	Descripción de los tratamientos	
	Suelo	Ogal (kg ha^{-1})
1	Normal	-
2	Contaminado	-
3	Contaminado	20
4	Contaminado	40
5	Contaminado	60
6	Contaminado	80
7	Contaminado	100

La aplicación al suelo se realizó a los 10-15 días de emergidas las plantas. Se utilizaron diez recipientes plásticos por cada tratamiento, con una planta cada uno, el experimento se realizó por triplicado, con un diseño completamente aleatorizado y el riego se realizó, según las normas técnicas del cultivo.

A los 40 días de emergidas las plantas, las raíces se lavaron con agua corriente y fueron colocadas en solución de CaCl_2 por 10 minutos, procurando retirar los metales adsorbidos en las paredes de las raíces y, posteriormente, se lavaron con abundante agua desionizada. Se evaluó la longitud de la raíz, la altura de las plantas y el contenido de metales pesados, en los diferentes órganos de la planta.

CARACTERIZACIÓN DE LOS SUELOS EMPLEADOS

A los suelos normal y contaminado se les determinó el contenido de materia orgánica (MO), según el método de Walkley y Black (10) y el pH por el método potenciométrico con una relación suelo:agua de 1:2,5.

^ACabrera, J. C. *Obtención de una mezcla de oligogalacturónidos a partir de corteza de cítrico*. Tesis de Doctorado, INCA, 2000, La Habana, Cuba, 100 p.

MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LOS ELEMENTOS METÁLICOS

Para la determinación del contenido de cobre pseudo total en suelo, 0,5 g de las muestras fueron sometidas a extracción con una mezcla de HCL/HNO₃ (3:1)(v/v) en un horno de microondas.

Para la determinación del contenido de metales pesados en plantas, se tomaron 0,5 g de muestra seca y pulverizada de la parte aérea y de la raíz, respectivamente, y se adicionaron 4 mL de HNO₃ 6 mol L⁻¹, la extracción se realizó en un horno de microondas. Posteriormente, los extractos resultantes fueron analizados por espectrofotometría de absorción atómica con llama en un equipo NovAA 350 con LD (mg kg⁻¹) de 0,01 para Cu.

MEDICIÓN DE LA LONGITUD RADICULAR Y ALTURA DE LAS PLANTAS

Altura de la planta: las mediciones de la longitud de la planta se hicieron desde la raíz, hasta el brote de la hoja terminal, con la ayuda de una regla graduada de 1 mm de aproximación.

Longitud de la raíz: las mediciones de la longitud de la raíz, desde la base del cuello hasta la cofia, con la ayuda de una regla graduada de 1 mm de aproximación.

Los resultados se analizaron por análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, en caso de diferencias significativas, las medias se compararon según la prueba de Tukey (p<0,05) (11). Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.1 para Windows (12), previamente se chequeó la distribución normal (Kolmogorov- Smirnov) (13), y la homogeneidad de varianza (14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla II se muestran los resultados correspondientes a los principales parámetros agronómicos que influyen de manera determinante en la disponibilidad y la distribución de los metales pesados en el suelo (15).

Al analizar las características del suelo normal y el que se contaminó artificialmente, el contenido de cobre biodisponible en el suelo contaminado es de 650 mg kg⁻¹, lo que representa un nivel de contaminación para el Cu. Estos valores se encuentran por encima de los rangos establecidos por la literatura nacional e internacional. Además, es notable el cambio presentado en la magnitud del pH al comparar el suelo normal y el contaminado, ya que al contaminar el suelo los valores de pH cambian desde el neutro a valores ácidos (16).

Tabla II. Propiedades químico-físicas de los suelos

Indicadores	Tratamientos	
	Suelo natural	Suelo contaminado
Cu (mg kg ⁻¹)	45,54±0,02	650,28±0,05
MO (%)	19,6± 0,03	2,22± 0,04
pH	7,4± 0,1	3,6± 0,1

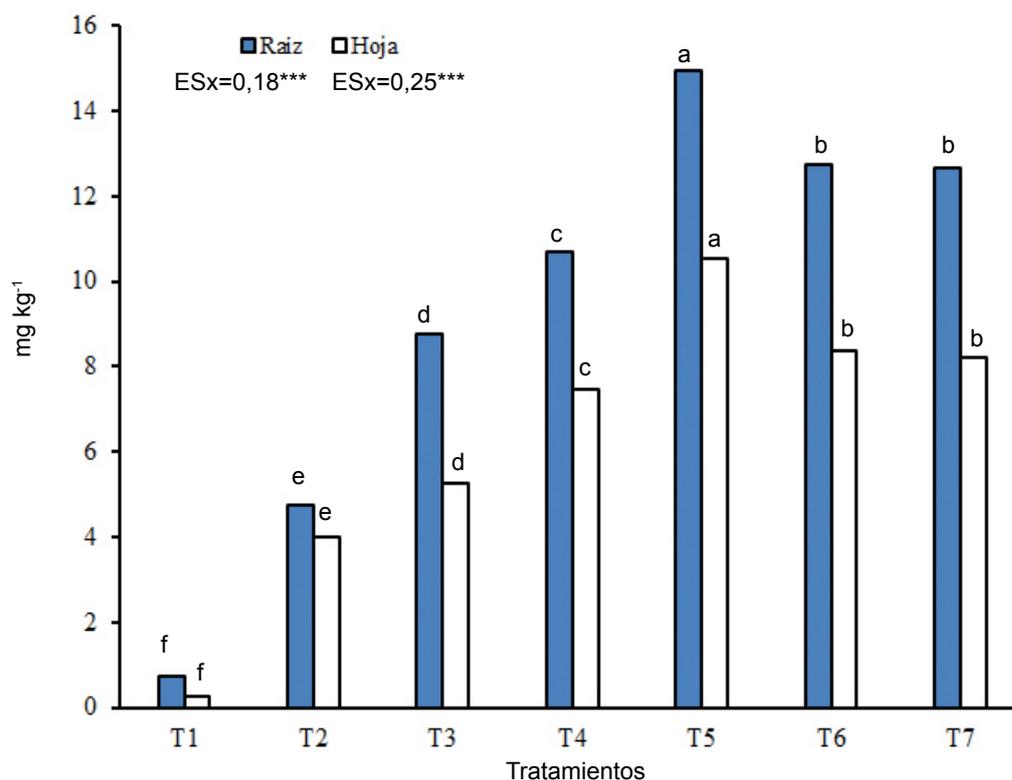
El pH del suelo contaminado se encuentra en valores ácidos, lo que puede influir notablemente en la fertilidad del mismo. Este aspecto es muy importante, ya que a valores de pH cercanos a 7, los macronutrientes tienen una elevada movilidad en el suelo y su mayor tasa de asimilación por las plantas; mientras que, la adsorción de los metales pesados por las mismas se ve limitada, por lo que los valores de pH bajos del suelo contaminado, favorecen la absorción de niveles extremadamente excesivos o tóxicos de estos elementos, fenómeno que suele ocurrir en plantas desarrolladas en sustratos con pH ácido (17).

También los bajos valores de la materia orgánica en el suelo pueden garantizar una alta disponibilidad de los iones metálicos, ya que la materia orgánica regula la biodisponibilidad de los metales pesados por enlazarse a los mismos (18).

En la Figura 1 se observa el contenido de iones cobre en las raíces y la parte aérea de las plantas de tomate cuando se aplica la mezcla de Ogal al suelo. El contenido de iones cobre en las plantas crecidas en el medio contaminado, es mayor que las del tratamiento control (T1), existiendo diferencias significativas entre ellas; sin embargo las plantas que crecieron en el medio contaminado y se les aplicó la mezcla de Ogal, presentan mayor contenido que las que no se les aplicó el producto (T2).

Al analizar el comportamiento de las plántulas que crecieron en el medio contaminado, con diferentes dosis de la mezcla de Ogal, las que mayores contenido de iones cobre presentaron en las raíces y la parte aérea fue el tratamiento donde se aplicó una dosis de 60 kg ha⁻¹, presentando diferencias significativas con los demás tratamientos.

Los resultados encontrados mostraron que los metales pueden formar complejos estables con la mezcla de Ogal, pasando a formar parte, con el tiempo, de una forma química disponible y, si no es retenido por otra fracción del suelo, puede permanecer en la solución del suelo y ser absorbido por las raíces de las plantas. Otro factor de vital importancia es el pH ácido del suelo, que facilita el intercambio de los protones de los grupos carboxílicos, que son completamente solubles con los iones de los metales absorbidos, lo que facilita también la formación de los complejos metálicos (19, 20).



- T1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)
 T2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
 T3. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (20 kg ha⁻¹)
 T4. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (40 kg ha⁻¹)
 T5. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (60 kg ha⁻¹)
 T6. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (80 kg ha⁻¹)
 T7. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (100 kg ha⁻¹)
 *Letras diferentes indican diferencias significativas según Duncan para $p \leq 0,05$

Figura 1. Contenido de iones cobre en las raíces y parte aérea de las plantúlas de tomate cuando se aplica la mezcla de Ogal al suelo

De ahí la disminución del contenido de estos elementos en la fracción biodisponible del suelo, y esto se refleja en el aumento del contenido de metales en las plantas que se trataron con la mezcla de Ogal.

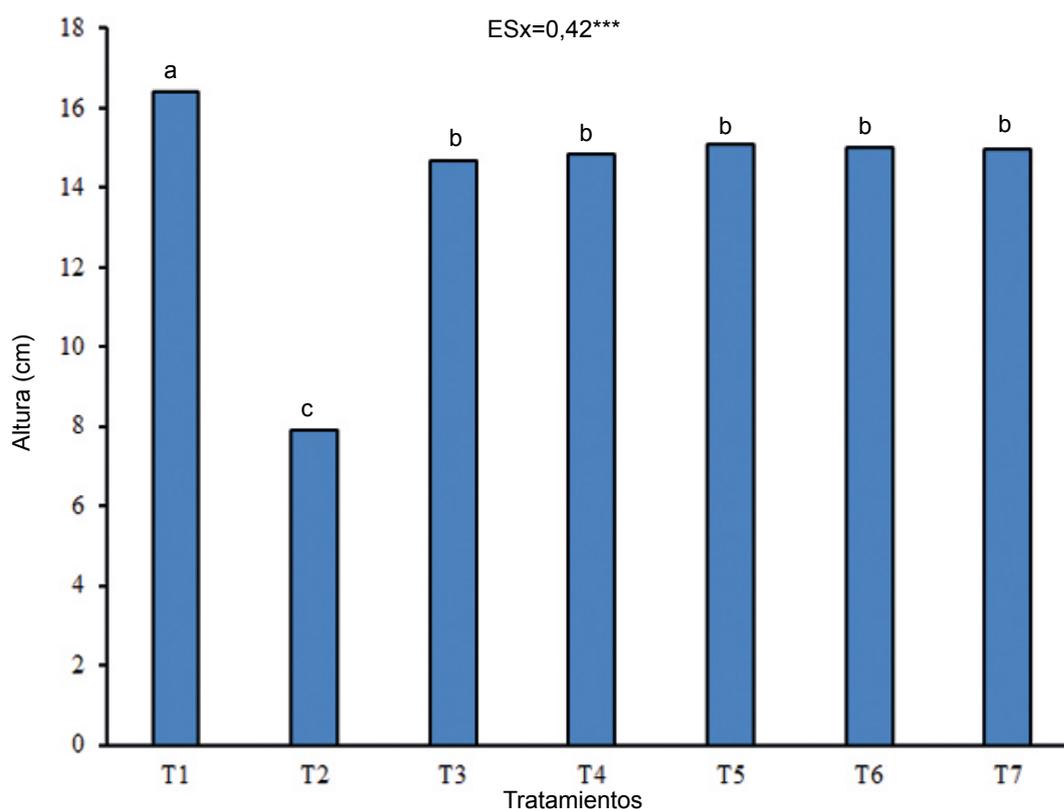
Resultados que confirman el incremento en el contenido de Cu, Mn y Zn en los órganos vegetales provocados por la aplicación de EDTA al suelo fueron encontrados por Peu (21), quienes informaron que la aplicación de este agente quelatante incrementó el contenido de dichos metales en los tejidos de plantas nativas crecidas en ecosistemas semiáridos.

Al analizar el efecto de la mezcla de Ogal cuando se aplica al suelo en la altura de las plantas de tomate (Figura 2) se observa que las plantas que crecieron

en condiciones normales (T1) presentan mayor altura en relación con las que crecieron en el medio contaminado, con diferencias significativas entre ellas, lo que muestra el efecto fitotóxico de este ión en las plantas de tomate.

En el caso de las plantas crecidas en el medio contaminado, las que estuvieron con la presencia del producto en el suelo, presentan un mayor crecimiento con respecto a las que crecieron sin la aplicación del mismo, existiendo diferencias significativas entre ellas. Por otro lado, las plantas que crecieron con diferentes dosis del producto en el suelo no presentaron diferencias significativas entre ellas.

Estos resultados parecen indicar que la mezcla de Ogal estimula el crecimiento en altura también cuando las plantas están sometidas a un estrés por un metal pesado (22).



- T1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)
 T2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
 T3. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (20 kg ha⁻¹)
 T4. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (40 kg ha⁻¹)
 T5. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (60 kg ha⁻¹)
 T6. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (80 kg ha⁻¹)
 T7. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (100 kg ha⁻¹)
 *Letras diferentes indican diferencias significativas según Duncan para p≤0,05

Figura 2. Altura de las plantúlas de tomate cuando se aplica la mezcla de Ogal al suelo en un medio contaminado

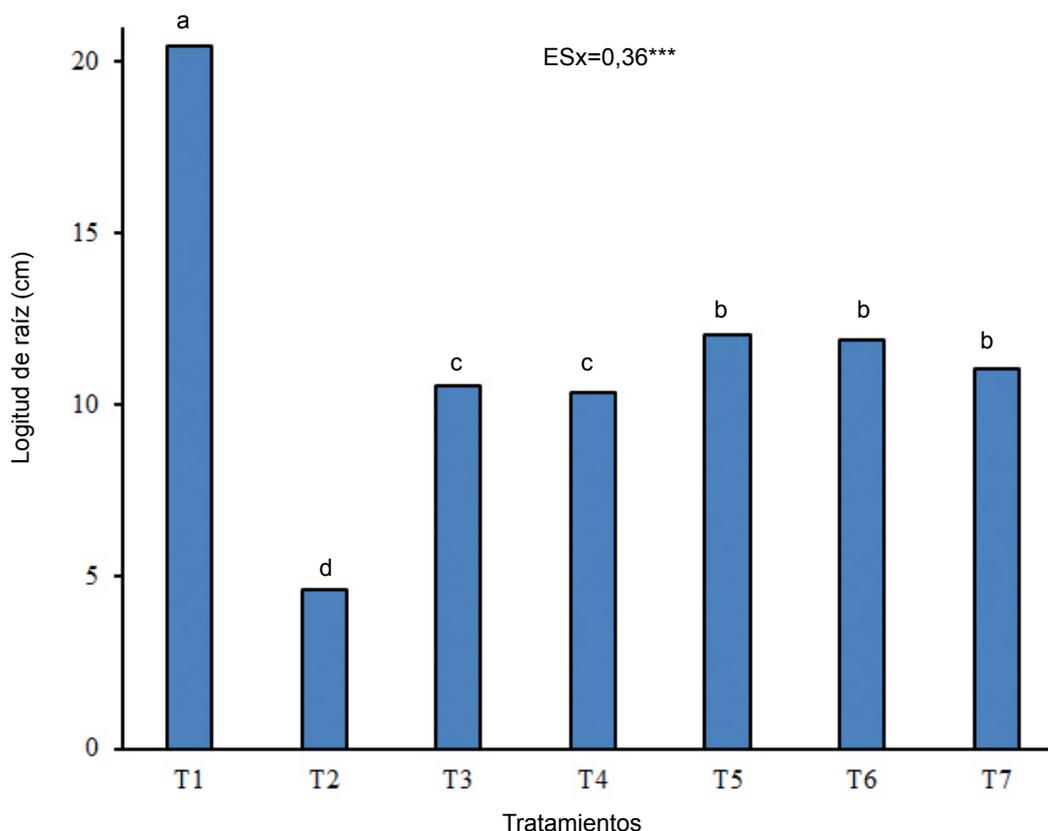
Los metales pesados no solo afectan el crecimiento de las plantas, por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato, sino por su propia toxicidad. Un exceso de metales pesados o de sus quelatos solubles puede inducir una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas, entre las que se encuentra la inhibición del crecimiento de la raíz (23, 24). Se conoce que para la mayoría de las especies vegetales, la raíz, es el órgano más afectado por altos niveles de metales, siendo la inhibición del crecimiento radical, el síntoma de toxicidad más observado (25).

En la Figura 3 se muestra la longitud de la raíz de las plantas cuando se aplica la mezcla de Ogal al suelo, de forma general, se observa un mayor crecimiento en la longitud radical de las plantas que crecieron en un medio normal (T1), sobre las que crecieron en un medio contaminado, mostrando diferencias significativas entre ellas.

Sin embargo, al analizar el comportamiento en la longitud radical de las plantas que crecieron en el medio contaminado, a las que se les aplicó el producto, mostraron menor longitud con respecto a las plantas controles, mostrando diferencias significativas entre ellas; pero con resultados superiores a las que crecieron en el medio contaminado, sin la aplicación de producto (T2), mostrando diferencias significativas entre ellas.

Al observar las plantas que crecieron en el medio contaminado con la aplicación de producto al suelo, las plantas que estuvieron sometidas a una dosis de 60 kg ha⁻¹ o superiores, mostraron mejores valores en la longitud de la raíz.

Este comportamiento sugiere que la aplicación de la mezcla de Ogal a dosis de 60 kg ha⁻¹ o superiores, puede atenuar la toxicidad o al menos estimula el alargamiento de la raíz principal de las plantas de tomate del cultivar Amalia, sometidas a un medio con altos niveles de metales pesados.



- T1. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)
 T2. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado
 T3. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (20 kg ha⁻¹)
 T4. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (40 kg ha⁻¹)
 T5. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (60 kg ha⁻¹)
 T6. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (80 kg ha⁻¹)
 T7. Semillas embebidas durante 4 horas en agua, suelo contaminado + Ogal (100 kg ha⁻¹)
 *Letras diferentes indican diferencias significativas según Duncan para p≤0,05

Figura 3. Efecto de la aplicación de Ogal al suelo en la longitud de la raíz de plántulas de tomate crecidas en un medio contaminado

De forma general, queda demostrado que cantidades excesivas de metal en el suelo afectan, de manera adversa, el crecimiento y desarrollo de las plantas. Procesos biológicos como la germinación de la semilla y crecimiento vegetativo se ven afectados por las altas concentraciones de metales.

Como resultado del estrés metálico, las plantas pueden responder con un amplio rango de respuestas fisiológicas a nivel molecular, celular y de organismo. Estas incluyen, por ejemplo, cambios en el desarrollo y la morfología de las plantas (inhibición del crecimiento apical, incremento en el crecimiento de las raíces y cambios en el ciclo de vida), ajuste en el transporte iónico (concentración, expulsión y secuestro de iones) y cambios metabólicos (metabolismo del carbono y la síntesis de solutos compatibles).

Resultados de la literatura demuestran que las raíces de las plantas se acortan y engrosan, debido a que los iones metálicos actúan directamente sobre el metabolismo, interfiriendo en la transferencia de iones, a través de las membranas celulares, lo cual afecta posteriormente la habilidad de la planta para la absorción de agua y nutrientes del suelo (26, 27).

CONCLUSIONES

Al aplicar la dosis 60 kg ha⁻¹ al suelo se logran niveles de extracción de iones Cu²⁺ por las plántulas de tomate completas de 25,47 mg kg⁻¹, lo que favorece el proceso de fitoextracción de este ion metálico por plantas hiperacumuladoras.

BIBLIOGRAFÍA

- Koelmel, J.; Prasad, M. N. V. y Pershell, K. "Bibliometric Analysis of Phytotechnologies for Remediation: Global Scenario of Research and Applications". *International Journal of Phytoremediation*, vol. 17, no. 2, 1 de febrero de 2015, pp. 145-153, ISSN 1522-6514, DOI 10.1080/15226514.2013.862207.
- Calderón, A.; Guridi, F.; García, E.; Rosado, E.; Valdés, R.; Pimentel, J. J. y Nils, A. "Material de origen natural que retiene cationes de metales pesados". *Revista Iberoamericana de polímeros*, vol. 8, no. 3, 2007, pp. 218-228, ISSN 1988-4206.
- Regalado, R. I.; Leiseca, P. A.; Cabrera, V. Y.; Franco, F. F. y Bulnes, G. C. "Cambios anatómicos en la especie *Cynodon nlemfuensis* Vanderhyst en suelos contaminados por metales pesados". *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, vol. 23, no. 4, diciembre de 2014, pp. 37-42, ISSN 2071-0054.
- Agudelo, B. L. M.; Macías, M. K. I. y Suárez, M. A. J. "Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos". *Revista LASALLISTA de Investigación*, vol. 2, no. 1, 2005, pp. 57-60, ISSN 1794-4449.
- Elmachli, S.; Chefetz, B.; Tel-Or, E.; Vidal, L.; Canals, A. y Gedanken, A. "Removal of Silver and Lead Ions from Water Wastes Using *Azolla filiculoides*, an Aquatic Plant, Which Adsorbs and Reduces the Ions into the Corresponding Metallic Nanoparticles Under Microwave Radiation in 5 min". *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 218, no. 1-4, 3 de noviembre de 2010, pp. 365-370, ISSN 0049-6979, 1573-2932, DOI 10.1007/s11270-010-0650-3.
- Kwok, K. C. M.; Koong, L. F.; Chen, G. y McKay, G. "Mechanism of arsenic removal using chitosan and nanochitosan". *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 416, 15 de febrero de 2014, pp. 1-10, ISSN 0021-9797, DOI 10.1016/j.jcis.2013.10.031.
- Arévalo, N. K.; Salazar, G. H. I.; Rojas, V. G.; Flores, G. M. S. y Solís, R. C. "Removal of Heavy Metals by Natural Polymer: Pectin, under Laboratory Conditions". *Biomaterials*, vol. 1277, 2010, p. 18, ISSN 0142-9612, DOI 10.1557/PROC-1277-S6-P18.
- Pérez, E. P. J.; Du, W. X.; Avena, B. R. de J.; Ferreira, S. N. de F. y McHugh, T. H. "Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review". *Food Hydrocolloids*, vol. 35, marzo de 2014, pp. 287-296, ISSN 0268-005X, DOI 10.1016/j.foodhyd.2013.06.005.
- Hernández, J. A.; Pérez, J. J. M.; Bosch, I. D. y Castro, S. N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*. Ed. Ediciones INCA, 2015, Mayabeque, Cuba, 93 p., ISBN 978-959-7023-77-7.
- Walkley, A. y Black, I. "An examination of the Degtjaref method and a proposed modification of the chromic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method". *Soil Science*, vol. 34, 1934, pp. 29-38, ISSN 1538-9243.
- Tukey, J. W. "Bias and confidence in not quite large samples". *The Annals of Mathematical Statistics*, vol. 29, no. 2, junio de 1958, pp. 614-623, ISSN 0003-4851, DOI 10.1214/aoms/1177706647.
- Statistical Graphics Corp. *STATGRAPHICS® Plus* [en línea]. (ser. Profesional), versión 5.1, [Windows], 2000, Disponible en: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
- Allen, M. E. *Kolmogorov-Smirnov test for discrete distributions* [en línea]. Master Thesis, Naval Postgraduate School, marzo de 1976, Monterey, California, 93 p., [Consultado: 26 de mayo de 2016], Disponible en: <<http://calhoun.nps.edu/handle/10945/17830>>.
- Cochran, W. y Cox, G. *Diseños experimentales* [en línea]. Ed. Trellas, 1990, México, 110 p., ISBN 968-24-1132-7, [Consultado: 17 de junio de 2016], Disponible en: <<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=LIBROSNL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000231>>.
- Basta, N. T.; Ryan, J. A. y Chaney, R. L. "Trace Element Chemistry in Residual-Treated Soil". *Journal of Environment Quality*, vol. 34, no. 1, 2005, p. 49, ISSN 1537-2537, DOI 10.2134/jeq2005.0049dup.
- Muñiz, O.; Arozarena, N. y Grün, M. "Contenido de Cd, Pb, Cu, Zn, Ni y Cr en los principales suelos cubanos". En: *I Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo*, Ed. Instituto de Suelos, La Habana, Cuba, 1988, p. 224.
- Nielsen, M. M.; Bruhn, A.; Rasmussen, M. B.; Olesen, B.; Larsen, M. M. y Møller, H. B. "Cultivation of *Ulva lactuca* with manure for simultaneous bioremediation and biomass production". *Journal of Applied Phycology*, vol. 24, no. 3, 28 de diciembre de 2011, pp. 449-458, ISSN 0921-8971, 1573-5176, DOI 10.1007/s10811-011-9767-z.
- Pérez, L. Y.; do Amaral, S. N. M.; Balbín, A. M. I.; Valdés, C. R. y Lima, M. M. O. "Contenido de elementos metálicos en suelos característicos del municipio San José de las Lajas". *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, vol. 21, no. 1, marzo de 2012, pp. 43-46, ISSN 2071-0054.
- Begum, Z. A.; Rahman, I. M. M.; Tate, Y.; Sawai, H.; Maki, T. y Hasegawa, H. "Remediation of toxic metal contaminated soil by washing with biodegradable aminopolycarboxylate chelants". *Chemosphere*, vol. 87, no. 10, junio de 2012, pp. 1161-1170, ISSN 0045-6535, DOI 10.1016/j.chemosphere.2012.02.032.
- García, G. E.; García, N. E.; Juárez, S. L. F.; Juárez, S. L.; Montiel, G. J. M. R. y Gómez, C. M. A. "La respuesta de haba (*Vicia faba*, L.) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 28, no. 2, mayo de 2012, pp. 119-126, ISSN 0188-4999.
- Peu, P.; Sassi, J. F.; Girault, R.; Picard, S.; Saint, C. P.; Béline, F. y Dabert, P. "Sulphur fate and anaerobic biodegradation potential during co-digestion of seaweed biomass (*Ulva* sp.) with pig slurry". *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 23, diciembre de 2011, pp. 10794-10802, ISSN 0960-8524, DOI 10.1016/j.biortech.2011.08.096.

22. Hernández, I. "La quitosana: un producto bioactivo de diversas aplicaciones". *Cultivos Tropicales*, vol. 25, no. 3, 2004, pp. 97–110, ISSN 0258-5936, 1819-4087.
23. Tho, I.; Kjøniksen, A. L.; Nyström, B. y Roots, J. "Characterization of Association and Gelation of Pectin in Methanol–Water Mixtures". *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 6, 1 de noviembre de 2003, pp. 1623-1629, ISSN 1525-7797, DOI 10.1021/bm0300204.
24. Anwar, H. M.; Piyatida, P.; da Silva, J. A. T. y Fujita, M. "Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation". *Journal of Botany*, vol. 2012, 2 de abril de 2012, p. 37, ISSN 2090-0120, DOI 10.1155/2012/872875.
25. Cahill, P. L.; Hurd, C. L. y Lokman, M. "Keeping the water clean — Seaweed biofiltration outperforms traditional bacterial biofilms in recirculating aquaculture". *Aquaculture*, vol. 306, no. 1–4, 15 de agosto de 2010, pp. 153-159, ISSN 0044-8486, DOI 10.1016/j.aquaculture.2010.05.032.
26. Gad, N.; El-Sherif, M. H. y El-Gereedy, N. H. M. "Influence of nickel on some physiological aspects of tomato plants". *Australian Journal Basic and Applied Sciences*, vol. 1, no. 3, 2007, pp. 286–293, ISSN 1991-8178.
27. Cai, M. Z.; Wang, F. M.; Li, R. F.; Zhang, S. N.; Wang, N. y Xu, G. D. "Response and tolerance of root border cells to aluminum toxicity in soybean seedlings". *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 105, no. 7, julio de 2011, pp. 966-971, ISSN 0162-0134, DOI 10.1016/j.jinorgbio.2011.04.004.

Recibido: 22 de julio de 2015

Aceptado: 16 de febrero de 2016