



TLATEMOANI
Revista Académica de Investigación
Editada por Eumed.net
No. 11 – Diciembre 2012
España
ISSN: 19899300
revista.tlatemoani@uaslp.mx

Fecha de recepción: 22 de octubre de 2012
Fecha de aceptación: 22 de noviembre de 2012

MONITOREO DE SUELOS CONTAMINADOS MEDIANTE PRUEBAS ECOTOXICOLÓGICAS

María del Carmen Cuevas Díaz¹
ccuevas@uv.mx
Fernando Amílcar Solís Domínguez²
solisf@uabc.edu.mx
Ángeles Martínez Toledo³
angeles.martinez@uaslp.mx

Resumen

Los contaminantes actúan negativamente sobre los seres vivos. Así, la ecotoxicología se ha encargado del estudio de la contaminación, su origen, destino y efecto sobre los seres vivos y ecosistemas. Los métodos ecotoxicológicos son útiles para determinar el efecto de los contaminantes en la salud del suelo y para evaluar la eficiencia de las medidas de remediación emprendidas para sanearlo. Entre los contaminantes cuyos efectos pueden ser evaluados con las pruebas ecotoxicológicas se encuentran los metales pesados, plaguicidas e hidrocarburos del petróleo, compuestos altamente tóxicos que pueden provocar cáncer en el ser humano. Los efectos de los

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Campus Coatzacoalcos, Universidad Veracruzana. Av Universidad Km 7.5 Col. Sta. Isabel. Coatzacoalcos, Ver. CP 96538 (921)2115713.

² Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California. Blvd Benito Juárez s/n. Mexicali, Baja California. C.P 21280. (686) 5664270.

³ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava N°6 - Zona Universitaria - Tel. (444) 826 24 40 al 46 - Fax 826 23 72 - C.P. 78240 - San Luis Potosí, S.L.P.

contaminantes sobre los seres vivos sensibles a concentraciones bajas pueden evaluarse aplicando pruebas en el laboratorio o en campo. Estas pruebas proporcionan información sobre los efectos de los tóxicos sobre el crecimiento, reproducción y mortalidad de las especies que se encuentren en los sitios contaminados. Este documento tiene como finalidad describir los principales métodos ecotoxicológicos, empleados para evaluar la eficiencia de los sistemas de biorremediación de suelos con hidrocarburos, entre los que se encuentran diferentes bioensayos en los que se utilizan microorganismos, enzimas, lombrices y semillas.

Palabras clave: Bioensayos, bioindicadores, toxicidad, tóxicos, organismos.

Abstract

Pollutants act negatively on the most organisms. Thus, ecotoxicology has been focused to study the environmental pollution, its origin, fate and effects on human beings and ecosystems. The ecotoxicological methods are useful to determine pollutant effects on the soil healthy and to evaluate the effectiveness of remediation process to carry on for that. Among the pollutants whose effects can be evaluated with ecotoxicological assays are heavy metals, pesticides and oil hydrocarbons, which are highly toxic compounds that can produce cancer in human beings. The effects of pollutants, at low concentrations, on sensitive organisms can be evaluated by applying assays either in the laboratory or field. These assays provide information about the toxic effects on growth, reproduction and mortality of the species that are present in the polluted sites. The objective of this document was to describe the main ecotoxicological methods, employed to assessing the bioremediation efficiency of contaminated soils with hydrocarbons in which different bioassays are used with microorganisms, enzymes, worms and seeds.

Key words: Bioassays, biomarker, toxicity, toxic, organisms.

1. Introducción

El desarrollo de nuevas tecnologías, la industrialización, el crecimiento poblacional, la agricultura, entre otras, son fuentes que en cantidades crecientes han emitido al medio ambiente sustancias químicas sintéticas (xenobioticos) y naturales, cuyas interacciones y efectos (toxicidad) sobre el medio ambiente y los seres vivos se conocen en forma parcial o insuficiente. Cuando las sustancias exceden las concentraciones que los ambientes o los seres vivos son capaces de asimilar, transformar o eliminar, se considera contaminación. Los problemas graves aparecen cuando la contaminación se extiende en el tiempo y el espacio. La contaminación se extiende en el tiempo y el espacio, provocando diversos efectos. Los efectos pueden ser acumulativos (cuando los adversos sólo se observan cuando el daño es irreversible), de umbral (cuando por acumulación rebasan la concentración umbral para cada sustancia y sistema) y de integración (dos o más sustancias interactúan entre sí formando una nueva sustancia). Los efectos adversos evidentes motivaron preocupaciones sociales mismas que han propiciado el desarrollo de varias disciplinas como la ecotoxicología, la toxicología ambiental y la química ambiental analítica (Albert, 2006). Una de las áreas más desarrolladas en ecotoxicología es el estudio de los cambios estructurales y funcionales de las comunidades biológicas expuestas a un tóxico. Para su estudio se han desarrollado tres tipos de unidades experimentales, microcosmos, mesocosmos y ecosistemas naturales, cuyos resultados han logrado el reconocimiento de agencias gubernamentales y privadas en los campos de monitoreo del medio ambiente y biorremediación (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2009).

Existen diversas publicaciones sobre el efecto de los contaminantes en la salud de los seres humanos y en los seres vivos en general; a saber, compuestos halogenados, dioxinas, hidrocarburos aromáticos, metales pesados, entre otros. Por ejemplo, Landau-Ossondo *et al.*, (2009) reportaron que el hexaclorobenceno (HCB), hexacloroexano (HCH) dicloro-difenil-tricoloetano (DDT) y Dicloro-difenil-dicloroetileno (DDE), están implicados en la aparición de cáncer de próstata y de seno. Los metales pesados como el

cadmio, cromo, mercurio, plomo y el metaloide arsénico, entre otros, están involucrados con la incidencia de cáncer; problemas renales, cardiovasculares y del sistema nerviosos central (Järup, 2003). El suelo es uno de los compartimentos ambientales más vulnerables debido a la alteración de sus propiedades físicas, químicas y biológicas ocasionadas por los contaminantes. Como ejemplo de la alteración de las propiedades físicas está la formación de una capa impermeable que reduce el intercambio de gases y la penetración de agua; de las propiedades químicas, los cambios en las reacciones de oxidoreducción; de las propiedades biológicas, la inhibición de la actividad microbiana (bacterias, hongos, protozoos, etc.), o daños en las plantas y los animales que viven dentro o sobre el suelo, e inclusive, en sus consumidores o depredadores (Essien y John, 2010; Izdebska-Mucha y Trzciński, 2008; Pen-Mouratov *et al.*, 2008).

Dado el problema que representan los contaminantes, es necesario conocer el nivel de daño que ocasionan a los organismos que habitan el suelo. Las pruebas ecotoxicológicas (bioensayos) son una buena herramienta para medir las respuestas biológicas que permiten estimar la presencia o concentración de las sustancias tóxicas. En éstas pruebas se utilizan diferentes organismos como microorganismos, animales o plantas, que cuando al modificarse las condiciones ambientales sus características fisiológicas y metabólicas cambian, por lo que se les considera bioindicadores (Capó, 2002). Para aplicar adecuadamente esta técnica es necesario definir el alcance y la finalidad de la prueba. Los bioindicadores para este fin se han clasificado de acuerdo a:

1.- Grado de sensibilidad que presentan ante los estímulos ambientales (por ejemplo, cualquier contaminante); esto es, muy sensibles, sensibles, poco sensibles, y resistentes.

2.- Forma de respuesta a los estímulos.

- Detectores.- Bioindicador que vive en un área y muestra respuestas al contaminante (mortalidad, abundancia, capacidad de reproducción, etc.).
- Explotadores.- Bioindicadores cuya presencia indica probabilidad de perturbación.

- Centinela.- Bioindicador que funciona como alarma al introducirse artificialmente a un medio (detectan contaminantes).
- Bioindicadores resistentes a ciertos compuestos, al ser capaces de absorberlos y acumularlos (pasto *Lolium multiflorum*).

Para cubrir de manera exitosa las pruebas se han empleado algunos criterios de selección:

- Ser de fácil observación y medición.
- Tener límites de tolerancia estrechos, en relación con variables ambientales.
- Las respuestas deben diferir ante estímulos distintos.
- Garantía de su pureza taxonómica
- Ser fácil de muestrear.
- Amplia distribución geográfica.
- Sensibles a un amplio espectro de contaminantes
- Con sensibilidad a bajas concentraciones
- Se conoce bien la biología de su especie (ciclo de vida, comportamiento, condiciones de desarrollo, etc.).
- Su sensibilidad no es redundante en relación con otras especies, es decir que no produce el mismo tipo de respuestas que otros organismos (Mendoza, 2012).

El empleo de bioindicadores en sitios contaminados da una respuesta indirecta de la toxicidad, es barato y permite integrar la toxicidad y la forma en que un contaminante es tomado por un organismo (Maila y Cloete, 2002). Las ventajas y desventajas del uso de bioindicadores en suelos contaminados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Ventajas y desventajas en el uso de bioindicadores.

Ventajas	Desventajas
Detecta tanto los compuestos tóxicos	Incapacidad para diferenciar la

como los metabolitos tóxicos.	respuesta de los compuestos tóxicos principales, de sus metabolitos.
La prueba se realiza fuera del sitio (<i>ex situ</i>) o sobre el sitio (<i>on site</i>).	La respuesta del bioindicador no siempre corresponde con la concentración del compuesto tóxico.
Periodo de prueba relativamente corto.	Diferentes ensayos dan respuesta distinta a los compuestos tóxicos.
La evaluación de la reducción de contaminación no es una metodología difícil.	La sensibilidad depende del compuesto tóxico y del suelo.

Capó, 2002

Los biomarcadores pueden ser (Rico-Martínez y Martínez-Jaramillo, 2009):

- Parámetros citológicos en donde se realizan estudios histológicos para identificar el daño en los tejidos por medio de observaciones microscópicas.
- Estudios enzimáticos se realizan estudios de inducción o inhibición de enzimas.
- Respuestas inmunológicas en donde se estudian los niveles de macrófagos y de anticuerpos contra ciertos contaminantes.
- Genotoxicidad que estudia los efectos de los contaminantes sobre el ADN (formación de aductos, ruptura de cadenas, de ADN, actividad oncogénica, metabolismo de metales y proteínas de estrés)

Algunas de las metodologías desarrolladas para evaluar la toxicidad de suelos contaminados o sometidos a procesos de biorremediación se exponen a continuación.

2. Pruebas ecotoxicológicas o bioensayos

Las pruebas ecotoxicológicas pueden realizarse en laboratorio o en campo. En el primer caso, los organismos son mantenidos en corrales adecuados, sometidos a las condiciones del medio. En el segundo, se reproducen las condiciones ambientales de modo parcial (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de pruebas ecotoxicológicas en campo y en laboratorio

Pruebas en campo	Pruebas en laboratorio
Involucra pocas especies	Incluye pocas especies
La prueba se realiza en condiciones no controladas.	Bajo condiciones controladas
Usualmente se da exposición múltiples	Usualmente implica una exposición simple
Las respuestas a observar no siempre se conocen	Se conocen las respuestas a observar
Las respuestas son más difíciles de discernir, pero más fácil de interpretar desde el punto de vista ecológico	Las respuestas son más fáciles de detectar, pero más difíciles de interpretar desde el punto de vista ecológico

Mendoza, 2012

Las pruebas se realizan en organismos considerando su relación con los organismos superiores, y con base en la relación existente entre la cantidad de sustancia recibida (en diferentes concentraciones), y el efecto o respuesta tóxica. Por otra parte, se entiende por toxicidad a la capacidad que presenta una sustancia para causar un daño sistémico en los organismos. Esta propiedad se clasifica, por su efecto tóxico, en agudas, crónicas y subcrónicas.

La toxicidad aguda es el efecto adverso (letal o sub-letal) inducido sobre los organismos del ensayo en prueba, durante un periodo de exposición, usualmente de pocos días. De Silva y van Gestel (2009), reportaron 100% de mortalidad de *Eisenia andrei* y *Perionyx excavatus* al exponerse a suelo contaminado con clorpirifós (900mg kg⁻¹ suelo seco) y carbofurán (64 mg kg⁻¹ suelo seco) después de 48 horas. En especies vegetales tales como *Prosopis juliflora*, *Acacia greggi*, *Buchloe dactyloides*, *Festuca arizonica*, *Atriplex*

lentiformis y *Cercocarpus montanus* se ha observado la falta de germinación de semillas al exponerse a desechos de minas con niveles elevados del metaloide arsénico ($2,593 \text{ mg kg}^{-1}$) y los metales pesados plomo ($2,197 \text{ mg kg}^{-1}$) y Zn ($2,003 \text{ mg kg}^{-1}$). En algunos casos las semillas germinan pero las plántulas mueren en un tiempo no mayor a 24 h posteriores a la germinación (Solís-Domínguez *et al.*, 2012).

La toxicidad crónica se refiere a efectos tóxicos a largo plazo, relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o reproducción del organismo expuesto (Ronco *et al.*, 2004). En lombrices se ha observado que, la exposición crónica a contaminantes reduce la tasa de reproducción al disminuir el número de huevos producidos por la especie en estudio; en especies vegetales se ha observado crecimiento lento, clorosis, reducción en la producción de biomasa y daños en el sistema radical (Kaplan *et al.*, 1980; Solís-Domínguez *et al.*, 2012). Uno de los aspectos más importantes en pruebas de toxicidad lo constituye la disponibilidad y salud del organismo, por lo que es necesario considerar algunos criterios para seleccionar la especie, por ejemplo:

- La sensibilidad del organismo a la prueba debe ser representativa de una clase en particular o *phyla* que la especie representa.
- Su distribución tiene que ser amplia y disponible en cantidades suficientes.
- Fácil de cultivar en el laboratorio.
- La estabilidad genética y uniformidad de las poblaciones durante el bioensayo, deben conocerse. Por ejemplo, las bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias del género *Pseudomonas* se han utilizado como bioindicadores de la calidad del suelo (Filip, 2002).
- Su biología, fisiología, historia del cultivo y hábitos nutricionales, deben saberse.
- Organismos autóctonos o representativos del ecosistema que se evalúa.
- Debe ser importante desde el punto de vista económico o ecológico.

Para determinar el efecto de las diferentes concentraciones sobre los organismos, existen diferentes parámetros:

- Concentración letal media (CL₅₀).- Es la concentración del compuesto tóxico en el suelo, que es letal para el 50 % de los organismos de ensayo.
- Concentración efectiva media (CE₅₀).- Concentración del compuesto tóxico que produce 50 % del efecto tomado como indicador de toxicidad, sobre los organismos expuestos.
- Concentración más alta del compuesto tóxico en la que ningún efecto es observado (NOEC = *No Observed Effect Concentration*).- Esta es la mayor concentración del compuesto tóxico, para el cual no se observa ningún efecto estadísticamente significativo con respecto al control en un determinado periodo de exposición.
- Concentración más baja en la que un efecto es observado (LOEC = *Low Observed Effect Concentration*).- Mínima concentración del compuesto tóxico, en la cual se observan efectos sobre los organismos de ensayo.

La toxicidad subcrónica evalúa respuestas subletales en tiempos de exposición intermedios que no cubren el ciclo de vida completo. Existen otras clasificaciones: de acuerdo al tiempo en que se desarrollan (corta, mediana y larga duración), por la forma de exposición a los materiales o muestras evaluadas (estáticos, estáticos con renovación de la solución de prueba y flujo continuo), por el tipo de muestras o materiales tóxicos evaluados (compuestos químicos específicos, mezclas de composición conocida, productos comerciales y efluentes), por el número de especies (taxas) empleadas (monoespecíficos, multiespecíficos y microecosistemas) y por el ámbito en que se desarrollan y grado de control (bioensayos en laboratorio y bioensayos *in situ*). Se han utilizado diversas pruebas ecotoxicológicas o bioensayos para el monitoreo de sitios contaminados, o para la determinación del efecto de los compuestos tóxicos, como son microorganismos, lombrices, germinación de semillas y actividades enzimáticas, que corresponden a diversos niveles de la cadena alimentaria (descomponedores, productores primarios y secundarios) (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2009).

2.1. Bioensayos con lombrices

Las lombrices son de importancia en la fauna del suelo, pues constituyen una gran parte de la biomasa animal edáfica en varios ecosistemas. Desempeñan un papel ecológico primordial debido a su influencia en la descomposición de la materia orgánica, el desarrollo de la estructura del suelo, y el ciclo de los nutrientes. La prueba aguda con lombriz determina el efecto del compuesto tóxico mediante la concentración letal (CL₅₀). El compuesto tóxico puede afectar a la lombriz por ingestión o por contacto, a través de la piel. En este bioensayo se colocan lombrices en un recipiente donde se ha aplicado suelo artificial, o suelo contaminado. Esta prueba tiene una duración de 14 días.

En la prueba subcrónica se determina el efecto del contaminante sobre la reproducción, con duración de ocho semanas (Cuevas-Díaz, 2008; OECD, 2004). Una prueba que puede ser una alternativa es la de evasión (Figura 1), que tiene la ventaja de ser rápida, pues requiere de 48 horas. En ésta, las lombrices evaden el suelo cuando es tóxico para ellas (De Silva y van Gestel, 2009). Entre las especies de lombrices utilizadas en estos bioensayos se encuentran *Eisenia andrei*, *Eisenia fetida* y *Perionix excavatus*, las cuales han sido utilizadas para determinar la CL₅₀ al exponerse a contaminantes como el clorpirifos, dimetoato o carburán (De Silva y van Gestel, 2009; Kaplan *et al.*, 1980).

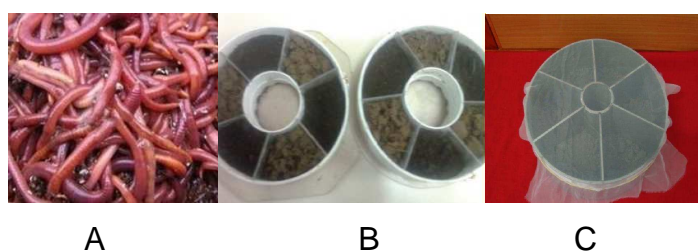


Figura 1. Bioensayo con lombrices empleando el método de evasión. A) Lombrices utilizadas en la prueba. B) Contenedores de seis cámaras o compartimentos para la evasión de lombrices y C) seguimiento de la prueba durante 48 h. Imágenes cortesía de María del Carmen Cuevas Díaz, 2008.

2.2. Germinación de semillas

Se estudia el efecto del compuesto tóxico sobre la germinación de semillas y el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Algunas especies son más sensibles a los compuestos tóxicos que otras, empleándose diversas especies como: trigo (*Triticum aestivum*), cebolla (*Allium cepa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y sorgo (*Sorghum vulgare*) (USEPA, 1996). En general, en estas pruebas se emplean especies de importancia económica (ornamental o de cultivo) y ecológicas (nativas), como se muestra en la Figura 2, donde la germinación de semillas de mesquite (*Prosopis juliflora*) no ocurre en un suelo contaminado con metales pesados como plomo, arsénico y cinc (Figura 2A), con respecto al mismo suelo remediado en donde sí germinaron las semillas (Figura 2B).

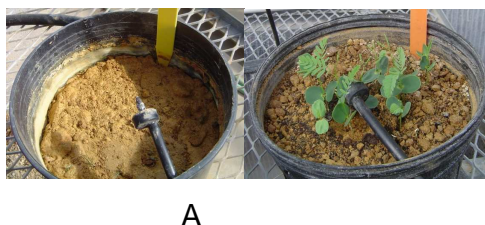


Figura 2. Bioensayo con semillas de mesquite en macetas de material plástico. A) Germinación negativa para un suelo contaminado con metales pesados. B) Germinación positiva para el mismo suelo después de ser remediado. Imágenes cortesía de Fernando A. Solís Domínguez, 2012.

En un estudio similar a los descritos anteriormente, se investigó a nivel de campo la degradación de hidrocarburos del petróleo de un suelo contaminado. Se establecieron seis bioceldas a las que se les adicionaron (residuos agroindustriales) bagazo y cachaza de caña de azúcar en 2% cada uno, como nutrimentos sulfato de amonio y fosfato diamónico; para airear se les aplicó volteo manual una vez cada semana, a tres se les instalaron tubos perforados para permitir el paso del aire y 45% de agua a capacidad de campo. Los hidrocarburos fueron degradados en ocho meses hasta 59% y 66%, de un total inicial de 74,660 mg kg⁻¹ de suelo de hidrocarburos totales del petróleo (HTP). Como un bioindicador se utilizó la germinación del frijol la cual fue de 93.3% tanto en el suelo sin contaminante como en el biorremediado y

aireado con volteo manual (Figura 3). Para el aireado con tubos de 90% y el suelo contaminado de 80% (Cuevas-Díaz, 2012).

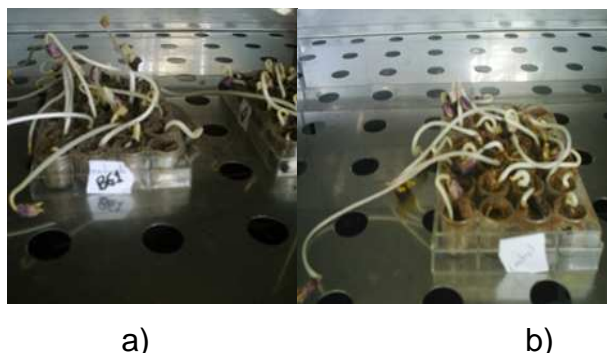


Figura 3. Germinación del *Phaseolus vulgaris* L(frijol) en bioceldas de suelos: a) biorremediado correspondiente al tratamiento con aireación y con volteo manual, b) control no contaminado. Cortesía de Cuevas-Díaz, 2012.

2.3. Enzimas

Las enzimas se consideran importantes indicadores debido a que catalizan las reacciones metabólicas de diversos procesos, como la descomposición de compuestos orgánicos y compuestos resistentes a la biodegradación que han sido creados por el hombre e introducidos al medio ambiente (xenobióticos). Las enzimas que han sido probadas para evaluar la toxicidad de compuestos inorgánicos como metales pesados y orgánicos como los hidrocarburos aromáticos halogenados y plaguicidas (a nivel laboratorio) durante el monitoreo de la salud del suelo, son: lipasa, ureasa, deshidrogenasa y catalasa. Para hidrocarburos, se han utilizado fosfatasa, debido a que tienen relación con el ciclo del fósforo (Montejo *et al.*, 2012). Las deshidrogenasas, lipasas y ureasas, se han utilizado para indicar el proceso de biodegradación de hidrocarburos del petróleo, disminuyendo su actividad cuando el proceso de biodegradación declina (Margensin, *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2010). Cuevas *et al.*, (2012) monitorearon la actividad de la enzima (fosfomonoesterasa alcalina y ácida) durante un proceso de biorremediación de suelos contaminados con petróleo adicionados con micronutrientes y enmiendas y observaron una correspondencia entre la actividad de estas enzimas y la remoción de hidrocarburos del suelo. En los tratamientos con la mezcla de cachaza y

bagazo de caña la actividad fosfatasa alcalina presentó una correlación ($R=0.7432$, $p<0.0001$) con la remoción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH), de forma similar se comportó en los tratamientos con solo cachaza en donde la correlación fue de $R=0.7064$, $p<0.0102$. La fosfatasa ácida presento menos actividad pero con resultados de correspondencia muy similares.

2.4. Microorganismos

Se consideran como pruebas potenciales para el monitoreo de suelos contaminados con hidrocarburos, a la actividad respiratoria del suelo y biomasa/cuenta de microorganismos, así como la bioluminiscencia microbiana (Van Beelen y Doelman, 1997). La cuenta microbiana disminuye, generalmente, después de que el suelo se contamina, pero puede aumentar cuando existe un proceso de biodegradación del contaminante. La actividad respiratoria se ha empleado, principalmente, para el monitoreo de la remoción de plaguicidas, pero en la remoción de hidrocarburos puede no ser representativo porque el proceso biológico pudiera deberse a la descomposición de otros compuestos orgánicos del suelo. Esta actividad es medida, por lo general, a través de respirometría o por titulación del CO_2 generado durante la respiración microbiana (Dawson *et al.*, 2007; Terekhova, 2010). Wang, *et al.*, (2010) trataron térmicamente un suelo contaminado con hidrocarburos y aplicaron varios ensayos toxicológicos para evaluar el éxito de su tratamiento, y observaron que en concentraciones residuales de 600 mg kg^{-1} la respiración microbiana puede disminuir.

Otra práctica común, en este tipo de pruebas, es la bioluminiscencia microbiana, que se relaciona con el transporte de electrones, los cuales son emitidos como subproductos luminiscentes durante la respiración. Así, el metabolismo de las bacterias es afectado por los contaminantes y por tanto, la luminiscencia (Lee *et al.*, 2003; Girotti *et al.*, 2008; Farré y Barceló, 2009). Diplock *et al.*, (2009) realizaron un estudio con cinco distintas variedades de microorganismos como (*E. Coli* HB101 (pUCD607, *E coli* HMS174(POS25), *Pseudomonas fluorescens* HK44(pUTK21), *P. putida* FI TnS luxCDABE, *P. putida* TUA8), diversos tipos de suelos contaminados (30) y con diferentes

hidrocarburos (diesel, aceites lubricantes, keroseno, etc. Con un rango de concentración de 458 mg kg⁻¹ a 68,800 mg kg⁻¹ y observaron una correspondencia entre las concentraciones altas y los niveles bajos de respiración celular (<10,000 mg kg⁻¹, R = 87.0, p<0.04; >10,000 mg kg⁻¹, R=0.98, p< 0.02) y altos niveles de inducción de los sensores de los microorganismos luminiscentes con los niveles altos de concentración de hidrocarburos. Es así como los bioensayos antes mencionados se han utilizado para: monitorear a nivel de campo el proceso de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, y determinar el efecto de plaguicidas (Chen *et al.*, 2012) y metales (Bagal-Kestwal, *et al.*, 2008) en los ecosistemas.

3. Factores modificantes de la toxicidad

Es importante considerar que la respuesta tóxica puede afectarse por diversos factores abióticos y bióticos, que son necesarios tomar en cuenta al momento de evaluar la toxicidad de una muestra. Algunos factores abióticos son, la clasificación del suelo con sus características fisicoquímicas (temperatura, humedad, pH, materia orgánica, nutrientes, etc.). Dentro de los factores intrínsecos de los microorganismos se encuentran, enfermedades, interacciones entre los taxones, parasitismo, estatus reproductivo, estatus nutricional y estadio de desarrollo (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2009).

4. Conclusiones

Las pruebas ecotoxicológicas o bioensayos, resultan adecuados para el seguimiento de procesos de remediación y monitoreo de contaminantes, debido a la información indirecta generada sobre la existencia de remanentes tóxicos en la matriz del suelo que provocan efectos adversos sobre los diferentes niveles tróficos: proceso microbiológico con biomasa microbiana, especie del reino animal con lombrices y especie del reino vegetal por inhibición de germinación de semillas. Sin embargo, debido a que el suelo resulta ser una matriz más compleja que el agua o aire, es necesario realizar más estudios de aplicabilidad entre una prueba u otra para cada tipo de suelo

con cada tipo de contaminante. Empero, todos los trabajos realizados dejan importantes antecedentes para poder consolidar una legislación ambiental a nivel nacional en donde se incluyan este tipo de pruebas en los procesos de remediación de suelos.

5. Referencias

- Alber L.A. (2006): "Curso básico de toxicología ambiental". Limusa Noriega Editores. México.
- Bagal-Kestwal D., Karvea M. S., Kakadeb B, Pillai V. K. (2009): "Invertase inhibition based electrochemical sensor for the detection of heavy metal ions in aqueous system: Application of ultra-microelectrode to enhance sucrose biosensor's sensitivity". *Biosensors and Bioelectronics* 24, 657–664
- Capó, M.C. (2002): "Principios de ecotoxicología. Diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente". McGraw-Hill. México.
- Chen D., Wang J., Xu Y., Li D., Zhang L., Li Z. (2012): "Highly sensitive detection of organophosphorus pesticides by acetylcholinesterase-coated thin film bulk acoustic resonator mass-loading sensor". *Biosensors and Bioelectronics* (en imprenta).
- Cuevas-Díaz, M. C. (2012): "Aplicación de residuos agroindustriales en la recuperación por cultivo sólido de un suelo contaminado con hidrocarburos y evaluación ecotoxicológica". Reporte técnico. Proyecto fondos FOMIX Clave VER-2006-C037127.
- Cuevas-Díaz, M.C., Torres-López C.P., Martínez-Toledo A., Sánchez-Díaz L.F. (2012). "Actividad de fosfatasa en suelo biorremediado con residuos de caña de azúcar". En memorias del V Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental. Universidad Autónoma de Aguascalientes del 23 al 29 de julio del 2012. ISBN 978-607-719-002-8
- Cuevas-Díaz, M.C., Roldán-Martín, A., Ferrera-Cerrato, R., Rodríguez-Vázquez, R. (2008): "Ensayo de toxicidad aguda con *Eisenia andrei*" En:

- Ramírez Romero, P., Mendoza Cantú, A. (compiladoras). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- Dawson J.J.C., Godsiffe E.J., Thompson I.P., Ralebitso-Senior T.K., Killham K.S., Paton G.I. (2007): "Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils" *Soil Biology & Biochemistry*. 39,164–177.
- De Silva, P.M.C.S., van Gestel, C.A.M. (2009): "Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionix excavatus* in earthworm avoidance test using two soil types in the tropics". *Chemosphere*. 77,1609-1613.
- Diplock E.E., Mardlin D.P., Killham K.S., Paton G.I. (2009). "Predicting bioremediation of hydrocarbons: Laboratory to field scale". *Environmental Pollution* 157, 1831–1840.
- Essien O.E., John I.A. (2010): "Impact of crude-oil spillage pollution and chemical remediation on agricultural soil". *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 14, 147-154.
- Farré M., Barceló D. (2009): "Biosensor for aquatic toxicology evaluation". *Hdb. Env. Chem.* SJ:115-160.
- Filip, Z. (2002): "International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters". *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88, 169-174.
- Girotti S., Ferri E. N., Fumo M.G., Maiolini E. (2008): "Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria". *Analytica Chimica Acta* 608, 2-29.
- Izdebska-Mucha D., Trzciński J. (2008): "Effects of petroleum pollution on clay soil microstructure". *Geologija*, 50, S68–S74.
- Järup L. (2003): "Hazards of heavy metal contamination" *British Medical Bulletin* 68, 167-182.
- Izdebska-Mucha D., Trzciński J. (2008): "Effects of petroleum pollution on clay soil microstructure". *Geologija* 50, S68–S74.
- Kaplan D.L., Hartenstein R., Neuhauser E.F., Maleckit M.R. (1980): "Physicochemical requirements in the environment of the earthworm *Eisenia foetida*". *Soil Biology and Biochemistry*. 12, 347-352.

- Landau-Ossondo M., Rabia N., Jos-Pelage J., Marquet L.M., Isidore Y., Saint-Aimé C., Martin M., Irigaray P., Belpomme D. (2009): "Why pesticides could be a common cause of prostate and breast cancers in the French Caribbean Island, Martinique. An overview on key mechanisms of pesticide-induced cancer". *Biomedicine and Pharmacotherapy* 63, 383-395.
- Lee H.J., Villaume J., Cullen D.C., Kim B.C., Gu M.B. (2003): "Monitoring and classification of PAH toxicity using an immobilized bioluminescent bacteria". *Biosensors and bioelectronics*. 18:571-577.
- Margesin, R., Zimmerbauer, A., Schinner, F. (2000): "Monitoring of bioremediation by soil biological activities". *Chemosphere*. 40, 339–346
- Maila, M.P., Cloete, T.E. (2002): "Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil". *International Biodeterioration and Biodegradation* 50, 107–113.
- Mendoza-Cantú, A. (2012). Ecotoxicología. En: Robledo, M.M., Rojas, G.A., Medina, D.I., Barrón, V.B. (Eds). *Fundamentos de Toxicología*. Universidad de Nayarit. Pp 441-460. México.
- Montejo, M.M. Torres, L.P., Martínez, T.A., Tenorio, L.J., Cruz, C.R., Ramos, M.R., Cuevas, D.C. (2012): "Técnicas para la actividad enzimática de suelos". En: Cuevas-Díaz, M.C. Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri-Hernández, C., Mendoza-Cantú, A (Editores). *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*. INE-SEMARNAT. México. Pp 19-46.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2004): "Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*)". Guidelines for testing of chemicals, 222. Paris, France. Disponible en: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-222-earthworm-reproduction-test-eisenia-fetida-eisenia-andrei_9789264070325-en;jsessionid=4wrb0wkr69l7.delta. Consultado en 20/06/12 a las 21:00.
- Pen-Mouratov S., Shukurov N., Steinberger Y. (2008): "Influence of industrial heavy metal pollution on soil free-living nematode population". *Environmental Pollution* 152, 172-183.

- Rico-Martínez y Martínez- Jerónimo. (2009): “Ecotoxicología general”. En: Jaramillo-Juárez, Rincón-Sánchez y Rico-Martínez (Coord.) Toxicología Ambiental. Textos Universitarios. UAA y UdeG. México.
- Ronco, A., Díaz-Baez, M.C., Pica-Granados, Y. (2004): “Conceptos Generales” En: Castillo, M. G. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México. 17-22 pp.
- Solís-Dominguez F.A., White S. A., Borrillo H. T, Amistadi M.K., Chorover J., Maier R.M. (2012): “Response of Key Soil Parameters During Compost-Assisted Phytostabilization in Extremely Acidic Tailings: Effect of Plant Species”. *Environmental Science and Technology* 46, 1019-1027.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1996): “Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.4200, Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test”. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. USA. Disponible en: [http://www.docstoc.com/docs/46344082/8504200---Seed-GerminationRoot-Elongation-Toxicity-Test-\(PDF\)](http://www.docstoc.com/docs/46344082/8504200---Seed-GerminationRoot-Elongation-Toxicity-Test-(PDF)). Consultado en 20/06/12 a las 20:15.
- Terekhova V. A. (2011): “Soil Bioassay: problems and approaches” .*Eurasian Soil Science* 44 ,2, 173–179.
- Van Beelen, P., Doelman, P. (1997): “Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediments”. *Chemosphere* 34, 455–499.
- Wang J., Zhan X., Zhou L., Lin Y. (2010): “Biological indicators capable of assessing thermal treatment efficiency of hydrocarbon mixture-contaminated soil”. *Chemosphere* 80, 837–844.