EVALUACIÓN DE LA FITOTOXICIDAD DEL LIXIVIADO DE RELLENOS SANITARIOS EN FRIJOL *(Phaseolus Vulgaris L.)* VARIEDAD JUNIO

Assessment Phytotoxicity of Landfill Leachate on Bean (Phaseolus Vulgaris L). June Variety.

Daniela Guerrero-Rodríguez [1]
Liliana Márquez-Benavides [2]
Ruth Alfaro Cuevas-Villanueva [3]
Juan Manuel Sánchez-Yáñez [4]

Dirección de contacto *(en negritas)*: San Juanito Itzícuaro S/N/ Col. Nueva Esperanza/ - Morelia-Michoacán- C.P. 58337 – México Tel: +52 (443) 3340475 ext 116 e-mail: dany_gurd@hotmail.com

ABSTRACT
In Mexico and some Latin American countries the disposal of solid waste sites are uncontrolled and open dumps. This causes a negative environmental impact by generating biogas and leachate. There are many forms to assess the leachate pollution to the environmental. The aim of this work was to assess the phytotoxicity of landfill leachate on bean (Phaseolus Vulgaris L) june variety. A sample was obtained from landfill from Toluca and the second sample from a uncontrolled site from Guanajuato. Bean seeds were seeded on Petri dishes and cotton and they were faced with the leachate only at the time of sowing at 6.25, 12.5, 25, 50, 75 and 100%, a control (distilled water) was used as reference. The response variables were phenotyping: % of germination, stem primordia height, root primordia length and biomass: fresh weight stem, fresh weight/ root, dry weight steem and dry weight root. Experimental data were validated by Tukey. The results of this work were that leachate from Toluca caused a significant toxic effect up 50%. The leachate from Guanajuato was toxic for the bean up 25%. Both leachates caused negative effects, from an inhibition in germination to a decrease in growth.

KeyWords: beans, landfill, leachate, phytotoxicity

[1] Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Ingeniera Química en Alimentos egresada de la Universidad Juárez del Estado de Durango, México con experiencia en área de calidad en la industria alimenticia (2010). Estudiante de Maestría de la UMSNH y con participación en dos congresos nacionales y uno internacional. *E-mail: dany_gurd@hotmail.com

[2] Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales.

[3] Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.

[4] Laboratorio de Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.

EVALUACIÓN DE LA FITOTOXICIDAD DEL LIXIVIADO DE RELLENOS SANITARIOS EN FRIJOL *(Phaseolus Vulgaris L.)* VARIEDAD JUNIO

Resumen
En México y algunos países de Latinoamérica la disposición final de residuos sólidos urbanos se hacen en sitios incontrolados y tiraderos a cielo abierto. Esto causa un impacto negativo al ambiente por la generación de biogás y lixiviado. Existen diversas formas de evaluar la contaminación de lixiviados al ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la fitotoxicidad de dos lixiviados sobre frijol *(Phaseolus Vulgaris, L.)* variedad junio. Una muestra fue obtenida de un relleno sanitario de Toluca y la otra de un sitio incontrolado de Guanajuato. Semillas de frijol fueron sembradas sobre algodón en cajas Petri y fueron tratadas con lixiviado solo al momento de la siembra al 6.25, 12.5, 25, 50, 75 y 100 % y un control con agua de la llave fue usado como referencia. Las variables de respuesta fueron de fenotipia: % de germinación, altura del primordio de tallo y longitud del primordio de raíz y biomasa: peso fresco y seco aéreo y radical los datos experimentales se validaron por Tukey. Los resultados indicaron que el lixiviado de Toluca un efecto tóxico para el frijol a partir del 50% y el lixiviado de Guanajuato a partir del 25%. Ambos lixiviados causaron efectos negativos en el desarrollo del frijol, desde una inhibición en su germinación hasta una disminución en su crecimiento.

Palabras clave: fitotoxicidad, lixiviado, frijol, rellenos sanitarios

Introducción

El lixiviado (LX) de rellenos sanitarios (RESA) son líquidos contaminantes producto de la descomposición de la fracción orgánica de los residuos sólidos. El LX tiene diferentes tipos de contaminantes orgánicos e inorgánicos como sales de magnesio, cloruros, amonio, sulfatos y metales pesados, que al entrar en contacto con las aguas subterráneas, superficiales o incluso el suelo causan efectos nocivos para la flora y fauna de los ecosistemas (Piña-Guzmán 2011). El grado de contaminación por LX generalmente está basado en la determinación de sus parámetros fisicoquímicos. Sin embargo la caracterización de LX por sí sola no aporta información suficiente del riesgo ambiental. Además, la información de qué tan contaminante puede llegar a ser, solo con la caracterización es difícil, ya que estos valores muchas veces se refiere a límites mayormente diseñados para aguas residuales.
Los bioensayos de fitotoxicidad son útiles para determinar el impacto de LX en plantas indicadoras como trigo (*Triticum* spp), maíz (*Zea mays*), cebolla (*Allium cepa*), rábano (*Raphanus sativus*) entre otras *(Mendez-Novelo et al*., 2009). Algunos estudios de fitotoxicidad de LX de RESA han demostrado su geotoxicidad como aumento de células mitóticas y formación de micornúcleos en plantas como en *Hordeum vulgare* (Sang, Li, y Xin, 2006). Se han realizado ensayos fitotóxicos en donde demuestran el impacto negativo del LX en plantas como *Salix amygdalina L, Lactuca sativa* L., y *Lepidium sativum* L., y se presenta principalmente disminución de su crecimiento y germinación, así como una disminución en su biomasa y crecimiento de la raíz (Bialowiec y Randerson, 2010; Žaltauskaitė y Čypaitė, 2008). No obstante han sido escasas las investigaciones sobre el estudio del efecto del LX de un RESA en frijol (*Phaseolus Vulgaris*).

Número de registro. 413-Guerrero-Mexico-1

Material y métodos

Obtención de la muestra del lixiviado.
El LX de Toluca se obtuvo de la laguna de lixiviados del relleno sanitario, la muestra del LX de Guanajuato se obtuvo de la laguna sin recubrimiento. Se obtuvieron 20 litros de LX de cada uno, el cual se almacenó en garrafas de plástico. Todas las garrafas se mantuvieron en hieleras a 4°C en tanto se transportaban al laboratorio. Una vez en el laboratorio se refrigeraron hasta su utilización.
Bioensayo de fitotoxicidad del frijol

Se sembró semillas de frijol en cajas Petri para evaluar la fitotoxicidad de los dos LX. Se utilizó un control absoluto (CA) con agua de la llave como referencia y para los demás tratamientos el frijol se alimentó con distintas concentraciones de LX sólo al inicio del experimento. El experimentó abarcó desde la fase de germinación hasta obtener un primordio de tallo y de raíz. El diseño experimental fue de 7 tratamientos para cada LX con 4 semillas por caja y 5 repeticiones por tratamiento.

Preparación de las semillas
Se realizó una desinfección de las semillas en una solución de cloro comercial (4%) por 10 minutos, se enjuagaron 6 veces con agua previamente esterilizada por 15 minutos a 121°C, se colocaron las semillas en etanol al 70% por 10 minutos y se enjuagó con agua estéril nuevamente.

Siembra de semillas
Se sembraron semillas de frijol en cajas Petri sobre algodón y papel secantes, previamente esterilizados. Se colocaron cuatro semillas en cada caja.

Diluciones de lixiviado
Se realizaron diluciones de cada LX para las pruebas de toxicidad de acuerdo a las recomendaciones de la (EPA, 2000) a partir de 6.25, 12.5, 25, 50 y 75%, la concentración de 100% fue LX sin diluir. Se agregaron de 10 ml de cada concentración de LX en las cajas Petri al momento de la siembra, posteriormente se irrigaron con 2 ml de agua de la llave. Para el CA también se agregaron 10 ml.

Germinación de semillas
Para la germinación de las semillas se colocaron las cajas petri en cámara húmeda con bolsas de plástico y en oscuridad a 25°C ± 2°C durante 24 horas, posteriormente a 25°C ± 2°C con un régimen de 16:8 horas luz:oscuridad por 120 horas.

Medición de variables respuesta
Se midieron variables de % de germinación y en base a su fenotipia: longitud del primordio de raíz y primordio de tallo en sus primeras fases de crecimiento. La biomasa se midió en base al peso fresco aéreo (PFA) y radical (PFR) (datos no mostrados) y peso seco radical (PSR) y aéreo (PSA).

Resultados y Discusión
El % de germinación del frijol alimentado con ambos LXS y con el CA se muestran en la Tabla 1. Frijol alimentado con LX de Guanajuato mostró diferencia significativa en el % de germinación únicamente con el CA y LX sin diluir. Frijol alimentado con LX de Toluca mostró diferencias significativas entre el CA y la concentración al 75% y 100%. Se piensa que LX sin diluir tienen componentes tóxicos en elevada concentración que impiden el adecuado crecimiento de plantas. Pocos han sido los autores que reportan datos sobre el % de germinación de semillas al ser tratados con LXS. Žaltauskaitė y Čypaitė (2008) cuantificaron el % de germinación en donde hubo una disminución al ser alimentadas dos plantas con LXS al 75% y 100%. En la figura 1A y 1B se muestra el frijol tratado con ambos LX al 100% y se observa que la germinación se vio inhibida por el contaminante.

Tabla 1. Porcentaje de germinación del frijol en comparación con el control y las concentración del lixiviado

Muestra del lixiviado	Control	Concentración del lixiviado (%)					
		6.25	12.5	25	50	75	100
		Porcentaje de germinación (%)					
Guanajuato	95[a]	70[a]	80[a]	65[a]	70[a]	60[a]	40 [b]
Toluca		70[a]	85[a]	95[a]	80 [a]	0 [b]	0 [b]

Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferente (Tukey $p<0.05$)

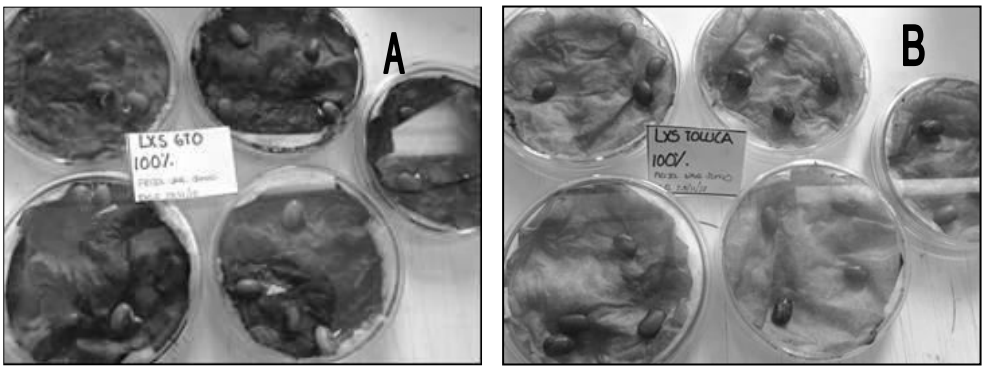
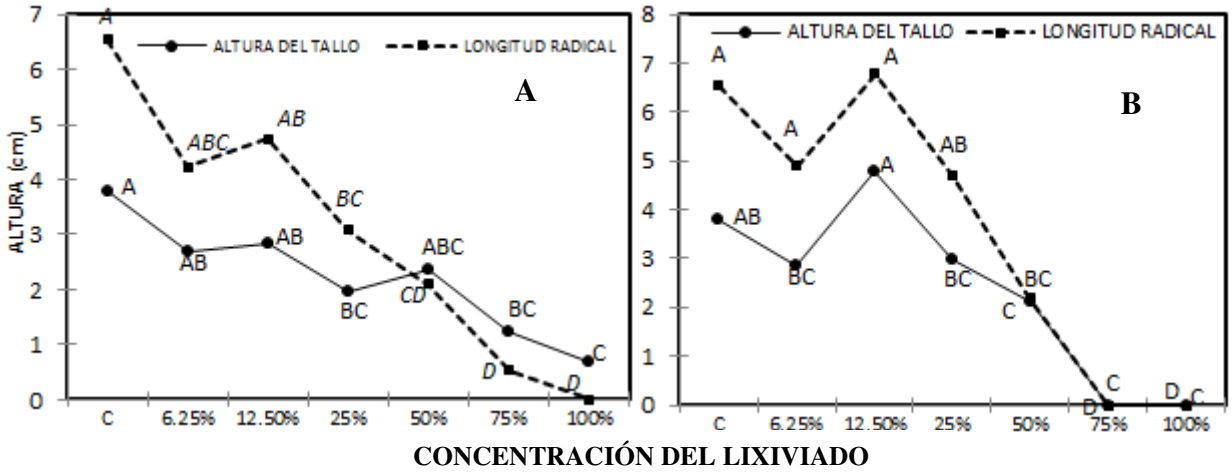


Figura 1. A Frijol tratado con lixiviado de Guanajuato al 100%. Figura B. Frijol tratado con lixiviado de Toluca al 100%

Efecto del lixiviado sobre la altura de la planta y longitud de la raíz

La toxicidad del LX de Guanajuato y Toluca sobre la altura del primordio de tallo y raíz del frijol se muestra en la figura 2A y 2B. Frijol alimentado con agua de la llave y con LX de Guanajuato al 12.5% muestran comportamiento similar tanto en la altura del primordio del tallo como de la raíz, lo cual esta dilución causó un efecto positivo en la planta, este efecto puede ser explicado por los requerimientos de nitrógeno aportados por el LX a esa concentración y también por la baja dilución de sustancias tóxicas (Žaltauskaitė y Čypaitė, 2008). Las diluciones de 6.5%, 25% y 50% disminuyeron el crecimiento de la raíz y del tallo por lo que mostró síntomas de deficiencias nutricionales. Frijol tratado con LX de GTO al 75 y 100% fue más tóxico para el frijol al reducir su altura en comparación con el frijol usado como control ya que hubo una diferencia estadística significativa con estos tratamientos (Figura 3 A, B, C). Similar comportamiento se observa con el LX de Toluca a la dilución del 12.5% la cual es una concentración adecuada para el crecimiento de la planta y de la raíz, inclusive mejor que frijol regado sólo con agua. La altura del primordio del tallo del frijol tratado con LX de TOL al 75 y 100% mostró una diferencia estadística significativa en comparación con el Frijol control, esto por la pérdida de germinación (Figura 4 A, B, C). En ambos LX a partir de la concentración del 50 % al 100% se observa una toxicidad en el frijol, por lo que no desarrolló por completo raíz y tallo del frijol (Bialowiec y Randerson, 2010).



Niveles que no están conectados por la misma letra indica que hay una diferencia significativa de la comparación de prueba de Tukey con un α de 0.05

Figura 2. A. Efecto del lixiviado de Guanajuato sobre la altura del primordio de tallo y raíz del frijol B. Efecto del lixiviado de Toluca sobre la altura del primordio del tallo y longitud radical en frijol

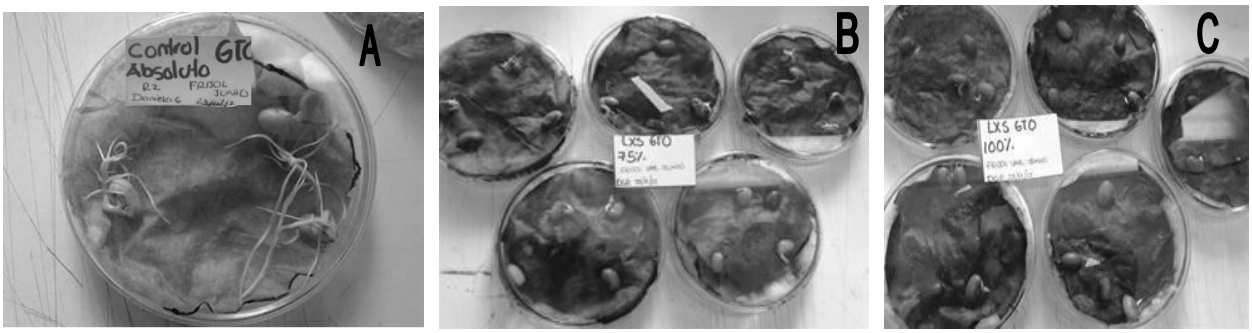


Figura 3. A Frijol irrigado con agua de la llave. B. Frijol tratado con lixiviado de Guanajuato al 75%. C. Frijol tratado con lixiviado de Guanajuato al 100%

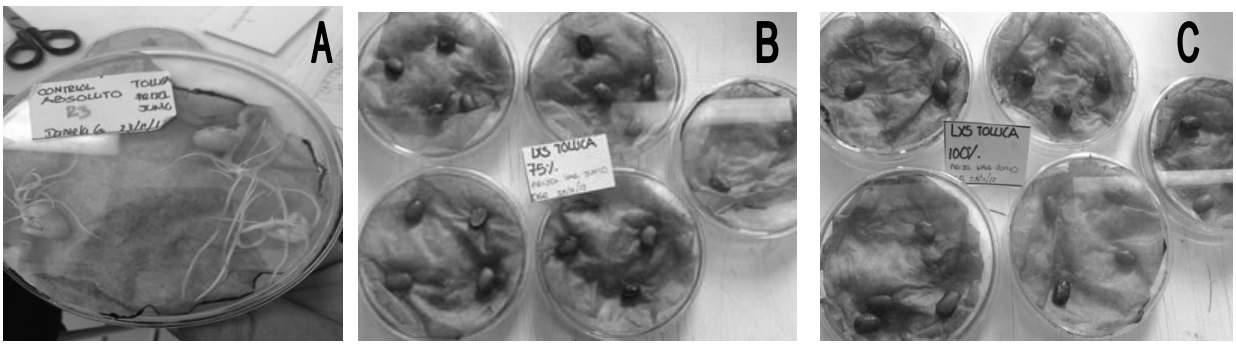
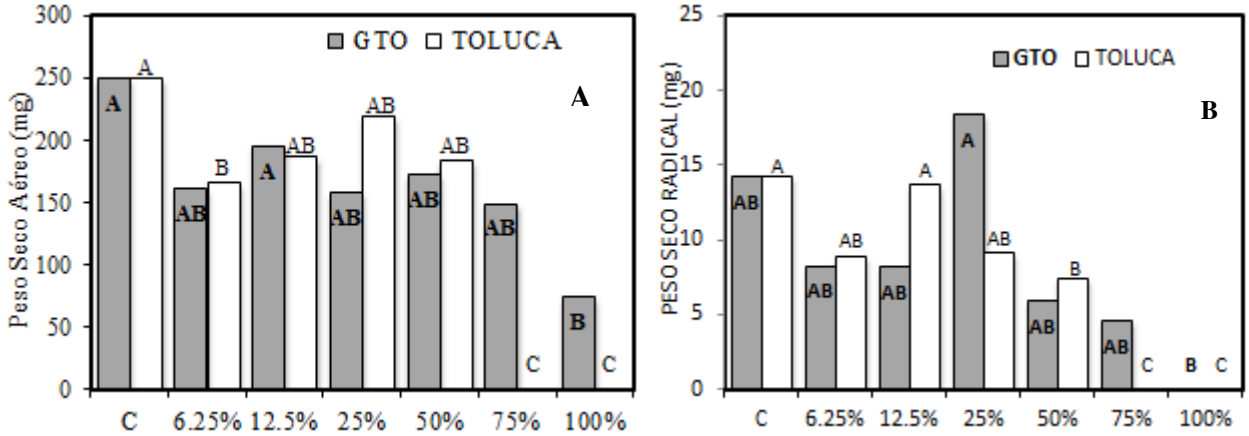


Figura 4. A Frijol irrigado con agua de la llave. B. Frijol tratado con lixiviado de Toluca al 75%. C. Frijol tratado con lixiviado de Toluca al 100%

Efecto del lixiviado sobre el peso seco aéreo y radical del frijol

La figura 5A representa la respuesta del frijol en su biomasa sobre el PSA del LX de Guanajuato y Toluca. PFA y PFR no se muestran datos. Frijol alimentado con LX de Guanajuato no muestra diferencia significativa entre el frijol usado como control y frijol tratado con LX al 12.5% lo cual indica que en esa dilución se encontraban los minerales adecuados para suplir su demanda y a la vez disminuyó las sustancias fitotóxicas en el LX (Frank y Agamuth, 2010). Con el LX de Toluca no hubo diferencia significativa entre el frijol irrigado sólo con agua de la llave y las diluciones de 6.25 % al 50%. En ambos LX la concentración del 75% y 100% provocaron efecto negativo sobre el PSA del frijol, lo que sugiere que en esa concentración se encuentran una excesiva cantidad de sustancias fitotóxicas para el frijol (Bialowiec y Randerson, 2010). La figura 5B indica el efecto de ambos LXS sobre el PSR del frijol. El frijol alimentado con LX de Toluca al 12.5% causó un efecto positivo en el PSR inclusive mejor que el regado solo con agua lo que indicó que en esa concentración se encontraban los nutrientes adecuados para el correcto crecimiento de la planta (Bialowiec y Randerson, 2010; Žaltauskaitė y Čypaitė, 2008). El LX de Guanajuato causó un efecto positivo en el PSR del frijol a la dilución del 25%. Ambos LXS causaron un efecto tóxico a las concentraciones del 75% y 100% para el PSA y PSR debido a la alta concentración de sustancias tóxicas en el LX (Cuevas y Walter, 2004).



CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO

Letras iguales de la comparación de prueba de Tukey con un α de 0.05 indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos

Figura 5. A. Efecto del lixiviado de Toluca y Guanajuato sobre el peso seco aéreo del frijol B. Efecto del lixiviado sobre el peso seco radical del frijol.

Conclusiones

El frijol puede ser utilizado como planta indicadora para evaluar la toxicidad de LXS. El efecto tóxico es más prominente a LXS casi sin diluir en donde a altas concentraciones se inhiben por completo el crecimiento de la planta. Algunas otras investigaciones demuestran que el LX diluido adecuadamente funciona como un fertilizante para diversas plantas. A dosis adecuadas ambos LXS resultaron benéficos para el frijol sin embargo el LX de Toluca fue el que mayor toxicidad mostró en el frijol inhibiendo por completo su crecimiento a dosis de 75% y 100%.

Agradecimientos. *– Al Dr. Edmundo Carlos López Barbosa por su contribución a este proyecto así como a los Proyectos 2.7 y 5.15 (2012) de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.*

Referencias Bibliográficas

Bialowiec, A., y Randerson, P. F. (2010). Phytotoxicity of landfill leachate on willow--Salix amygdalina L. *Waste management*, **30**(8-9), 1587–93.

Cuevas, G., y Walter, I. (2004). Metales Pesados en Maíz (Zea mays L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *20*, 59–68.

EPA. (2000). *Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing (40 CFR Part 136). Office of Water*.

Frank, O., y Agamuth, P. (2010). Nutrient Value Of Landfill Leachate On The Growth Of Brassica Rapa L . *Malaysian Journal Of Science*, **29** (2), 119–128.

Kiss, G., y Encarnación, G. (2006). Los productos y los impactos de la descomposición de residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final. *Gaceta Ecológica*, 79, 39–51.

Mendez-Novelo, R., Castillo-Borges, E., Sauri-Riancho, M., Quintal-Franco, C., Giácoman-Vallejos, G., y Jímenez-Cisneros, B. (2009). Comparación de cuatro tratamientos fisicoquímicos de lixiviados. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, **25**(3), 133–145.

Piña-Guzmán, A. B. (2011). Toxicología de la contaminación proveniente de los residuos sólidos. *Residuos Sólidos* (Márquez, L., pp. 277–310). *Ecología y Medio Ambiente.* Libros en Red.

Sang, N., Li, G., y Xin, X. (2006). Municipal landfill leachate induces cytogenetic damage in root tips of Hordeum vulgare. *Ecotoxicology and environmental safety*, **63**(3), 469–73.

Žaltauskaitė, J., y Čypaitė, A. (2008). Assessment of Landfill Leachate Toxicity Using Higher Plants. *Engineering*, **4**(4), 42–47.