

Bioacumulación de Pb, Hg y As *in vitro* en pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*)

Bioaccumulation of Pb, Hg and As *in vitro* in vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*)

Paola Karen Mejía-Márquez¹, Manuel de Jesús Macías-Patiño², Saúl Fraire-Velázquez³ y Miguel Alvarado-Rodríguez¹

¹Unidad Académica de Agronomía, ²Unidad Académica de Ciencias Químicas, ³Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

Resumen

Los metales pesados pueden estar presentes de manera natural en el medio ambiente, sin embargo en algunos casos, las actividades antropogénicas introducen cantidades elevadas que resultan dañinos para la biodiversidad. El objetivo de este trabajo fue el exponer plántulas de pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) *in vitro* a concentraciones de sales de metales pesados Plomo (Pb), Mercurio (Hg) y Arsénico (As) con la finalidad de saber si esta especie es tolerante y/o es capaz de acumular estos elementos en sus tejidos. Plántulas con un sistema radical abundante y vigoroso fueron enraizadas en medio de cultivo líquido MS, con sales de Pb, Hg y As e incubadas en tubos de ensayo tomando como referencia los valores máximos contemplados en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Después de 12 semanas de incubación, las plantas y el medio líquido remanente se analizaron por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) y se calcularon los factores de bioconcentración (FBC) y traslocación (FT). Los resultados mostraron que la mayor concentración de los metales analizados se acumula en la raíz del pasto. Los valores del FBC de la parte aérea y raíz en los tratamientos de Pb y Hg fueron >1, en el caso de dos de los tratamientos con As, 22 y 33 ppm, mostraron valores de 7.22 y 6.16, respectivamente. De acuerdo a estos resultados, el pasto vetiver se considera una especie vegetal hiperacumuladora.

Abstract

Heavy metals can be naturally present in the environment, however in some cases, anthropogenic activities introduce them in high quantities that are harmful to biodiversity. The objective of this work was to expose *in vitro* vetiver grass seedlings (*Chrysopogon zizanioides*) to concentrations of heavy metal salts (Pb, Hg, and As), in order to know if this species is tolerant and/or it is able to accumulate these elements in its tissues. Seedlings with an abundant and vigorous radical system rooted in liquid MS medium were incubated in test tubes containing salts of Pb, Hg and As taking as reference the maximum values contemplated in NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. After 12 weeks of incubation, the plants and the remaining liquid medium were analyzed by AAS. The bioconcentration (BCF) and translocation factor (TF) were calculated with the values obtained. The results showed that the highest concentration of the metals analyzed accumulates in the grass root. The BCF values of aerial and root part in the Pb and Hg treatments were >1, in the case of two of the treatments with As, 22 and 33 ppm, they showed values 7.22 and 6.16 respectively. According to these results, vetiver grass is considered a hyperaccumulative plant species.

Keywords : *Chrysopogon zizanioides* , *in vitro* seedlings , bioconcentration factor , translocation factor.

Palabras clave: *Chrysopogon zizanioides*, vitroplántulas, factor de bioconcentración, factor de traslocación.

Introducción

La minería es una de las actividades económicas de mayor tradición en México, practicada desde la época prehispánica y fuente de la expansión regional desde la Colonia (Hernández *et al.*, 2009). Actualmente esta actividad sigue siendo una de las más importantes y ha definido la vocación productiva de algunas entidades federativas de México como Zacatecas (Hernández *et al.*, 2009; Secretaría de Economía, 2006). Esta actividad ha generado enormes áreas afectadas por la contaminación de compuestos potencialmente tóxicos, que bajo ciertas condiciones y concentraciones pueden tener efectos nocivos a la salud de la población y afectaciones al equilibrio ecológico, como se establece en la norma NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOF, 2007). Los problemas de contaminación que existen actualmente requieren de tecnologías costo-efectivas, ambientalmente amigables y que puedan aplicarse a gran escala, tal es el caso de la fitorremediación que aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, estabilizar o volatilizar contaminantes orgánicos y/o inorgánicos presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos: La fitorremediación implica complejas interacciones que se establecen con la rizósfera, y que le confieren a esta tecnología importantes ventajas sobre otros métodos convencionales de remediación (Delgadillo *et al.*, 2011). Se han identificado una diversidad de especies que se emplean para este fin. Algunas de ellas, debido a su gran capacidad para acumular metales pesados, reciben el nombre de hiperacumuladoras. Por definición, estas plantas deben acumular una concentración excesiva de metal por Kg de materia seca en algún tejido de su biomasa, éstas se especifican a partir de las siguientes concentraciones: $>10,000 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de Mn y Zn, $>1,000 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de Co, Cu, Pb, Ni, As y Se, $>100 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de Cd y $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ Hg

Introduction

Mining is one of the most traditional economic activities in Mexico, practiced since pre-hispanic times and a source of regional expansion from the Colony (Hernández *et al.*, 2009). Currently this activity remains one of the most important and has defined the productive vocation of some federal entities of Mexico as Zacatecas (Hernández *et al.*, 2009; Secretaría de Economía, 2006). This activity has generated huge areas affected by contamination by potentially toxic compounds, which under certain conditions and concentrations can have harmful effects on the health of the population and also affect the ecological balance, as established in the standard NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOF, 2007). The pollution problems that currently exist require environmentally friendly cost-effective technologies that can be applied on a large scale, such is the case of phytoremediation, that takes advantage of the ability of certain plants to absorb, accumulate, metabolize, stabilize or volatilize organic and/or inorganic pollutants present in soil, air, water or sediments. Phytoremediation involves complex interactions that are established in the rhizosphere, and which give this technology advantages over other conventional remediation methods (Delgadillo *et al.*, 2011). A diversity of species that are used for this purpose has been identified. Some of them, due to their great capacity to accumulate heavy metals are called hyperaccumulators. By definition, these plants must accumulate an excessive concentration of metal per Kg of dry matter in some tissue of their biomass; These species from the following concentrations: $>10,000 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ of Mn and Zn, $>1,000 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ of Co, Cu, Pb, Ni, As and Se, $>100 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ of Cd and $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ Hg (Marrero *et al.*, 2012). Vetiver grass is a perennial plant of the gramineae family that grows at a height of up to three meters, with a strong radical system. It is cultivated for various uses, among the most important, phytoremediation of soil and water, and soil protection against erosion (Pareek y Kumar, 2013). Vetiver multiplication is by asexual

(Marrero *et al.*, 2012). El pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) es una planta perenne de la familia de las gramíneas (Wildschut, 2013), que crece hasta una altura de tres metros, con un sistema radical fuerte. Es cultivada para diversos usos, entre los más importantes se pueden mencionar: fitorremediación de suelo y agua, protección de suelos contra la erosión (Pareek y Kumar, 2013). La multiplicación del vetiver es por reproducción asexual (por esquejes) o por reproducción *in vitro*. El presente trabajo se centra en exponer plantas de vetiver *in vitro* a concentraciones de metales pesados para determinar su capacidad de acumularlos.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se inició con plantas *in vitro* con un sistema radical abundante y vigoroso, las que se incubaron en tubos de ensayo conteniendo 20 mL de medio líquido de Murashige & Skoog (MS, 1962) suplementado con concentraciones de sales de plomo, mercurio y arsénico. La concentración de metales pesados se estableció tomando como referencia los valores máximos contemplados en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOF, 2007). Se consideraron cuatro tratamientos por cada uno de los elementos estudiados, cada uno con 10 repeticiones. Además a cada tratamiento se le añadió una cantidad equimolecular de EDTA como agente quelante. Los tratamientos probados fueron 0% (control), lo máximo permitido por la norma, un 50% por debajo y un 50% por encima de la Concentración de Referencia Total (CRT) permitida en suelos para zonas residenciales (Tabla 1).

reproduction (by cuttings) or by *in vitro* reproduction. The present work focuses on the exposing vetiver plants *in vitro* to high concentrations of heavy metals to determine their ability to accumulate them.

Materials and Methods

The present work began with *in vitro* plants with an abundant and vigorous radical system, which was incubated in test tubes containing 20 ml of Murashige & Skoog liquid medium (MS, 1962), supplemented with concentrations of lead, mercury and arsenic salts. The heavy metal concentration was established taking as reference the maximum values indicated in the standard NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (DOF, 2007). Four treatments were considered for each of the elements studied, each with 10 repetitions. In addition, an equimolecular amount of EDTA was added as chelating agent to each treatment. The treatments tested were 0% (control), the maximum allowed by the standard, 50% below and 50% above the Total Reference Concentration (CRT) allowed in soils for residential areas (Table 1).

After 12 weeks of exposing the grass to heavy metals, the survival of plants was evaluated. Next, the metal concentration in the grass tissues was determined as well as in the remaining liquid MS medium. The plants were segmented in aerial part and root, and then dehydrated in the oven at 70°C for 48 h; each segment was subsequently weighed in analytical balance.

Tabla 1. Concentración de metales pesados y sales empleadas.
Table 1. Concentration of heavy metals and salts used.

Elemento	Sal empleada	Concentración del metal (mg/L ⁻¹)			
As	KH ₂ AsO ₄	0	11	22*	33
Pb	Pb(NO ₃) ₂	0	200	400*	600
Hg	HgCl ₂	0	12	24*	36

*Valores máximos permitidos en suelos, con base a la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004

*Maximum permitted values of heavy metals and salts used.

Después de 12 semanas de exponer el pasto a los metales pesados se evaluó la sobrevivencia de las plantas. Enseguida se procedió a determinar la concentración de los metales en los tejidos del pasto, así como en el medio MS líquido remanente. Se segmentaron las plantas, en parte aérea y raíz para después ser deshidratadas en horno a 70°C durante 48 h; posteriormente se pesó cada segmento en balanza analítica. Los tejidos deshidratados se pulverizaron y digirieron con ácidos (5 mL H₂SO₄ 1:1, 8mL HCl 1:1 y 1mL HNO₃ concentrado) llevándolos a ebullición por cinco minutos. Las muestras se dejaron enfriar, se filtraron y se aforaron a un volumen de 100 mL. Al medio nutritivo remanente se le midió el volumen y se sometió de igual manera con ácidos (2 mL H₂SO₄ 1:1, 2 mL HCl 1:1 y 1 mL HNO₃ concentrado), se llevó a ebullición por cinco minutos, en este caso se aforó a 50 mL. Una vez digeridas las muestras, se realizó la cuantificación de metales pesados utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) marca Perkin-Elmer 2380. Con los datos obtenidos se procedió a calcular el FBC y el FT de cada uno de los metales pesados evaluados.

El FBC se determinó dividiendo la concentración del metal en la biomasa de la planta entre la concentración del elemento en el medio MS líquido remanente (equivalente al suelo). Si el FBC <1 la planta es excluyente, si es de 1 a 10 la planta es acumuladora, si es >10 la planta es hiperacumuladora (Baker, 1981; Yoon, 2006). El FT, se calculó al dividir la concentración del metal en la parte aérea de la planta entre la concentración del metal en la raíz (Olivares *et al.*, 2009). Si el FT >1 significa que la planta traslada eficazmente los metales pesados de la raíz a la parte aérea de la planta (Baker y Brooks, 1989), por lo que su potencial es la de hiperacumular metales en la parte aérea. Si el FT <1 significa que la planta no traslada eficazmente los metales pesados de la raíz a la parte aérea, por lo que su potencial es la de fitoestabilizar metales.

Resultados

El índice de sobrevivencia del pasto

Dehydrated tissues were pulverized and digested with acids (5 mL H₂SO₄ 1:1, 8mL HCl 1:1 and 1mL of concentrated HNO₃) by boiling them for five minutes. The samples were allowed to cool, filtered and settled at a volume of 100 mL. The volume was measured in the remaining nutrient medium and subjected equally to acids (2 mL H₂SO₄ 1:1, 2 mL HCl 1:1 and 1 mL concentrated HNO₃), it was boiled for five minutes, in this case it was set to 50 mL. Once the samples were digested, the quantification of heavy metals was performed using a Perkin-Elmer 2380 atomic absorption spectrophotometer (AAS).

With the data obtained, the BCF and the TF for each of the heavy metals were determined. The BCF was calculated by dividing the concentration of the metal in the plant's biomass by the concentration of the metal in the remaining liquid MS medium (equivalent to the soil). If the BCF <1, the plant is exclusive, if it is 1 to 10, the plant is accumulative, if it is >10, the plant is hyperaccumulator (Baker, 1981; Yoon, 2006). The TF was calculated by dividing the concentration of the metal in the aerial part of the plant by the concentration of the metal in the root (Olivares *et al.*, 2009). If the TF >1, it means that the plant effectively transfers heavy metal from the root to the aerial part (Baker and Brooks, 1989), so its potential is to hyperaccumulate metals in the aerial part. If TF <1, it means that the plant does not effectively transfer heavy metals from the root to the aerial part, so its potential is to phytostabilize metals.

Results

The survival rate of vetiver grass incubated with the toxic elements for a period of 12 weeks was 100%. In the treatments with Pb, the plants had longer and more vigorous roots than in the rest of treatments including the control. In treatments with Hg and As at their maximum concentrations, the leaves of some plants began to show a brownish color (Figure 1), probably due to physiological stress due to the presence of the heavy metal in the nutritive medium.

vetiver incubado con los elementos tóxicos por un periodo de 12 semanas fue del 100%. En los tratamientos con Pb las plantas presentaron raíces más largas y vigorosas que el resto de tratamientos incluyendo el control. En los tratamientos con Hg y As, en sus máximas concentraciones, las hojas de algunas plantas comenzaron a presentar una coloración parduzca (Figura 1), debido probablemente al estrés fisiológico por la presencia del metal pesado en el medio nutritivo.

Plants exposed to As were the ones that had a smaller size, in addition to smaller roots compared to the other treatments. According to these results, the concentration of heavy metals accumulated in the root was high, but their translocation was low in all treatments resulting in a TF < 1.0.

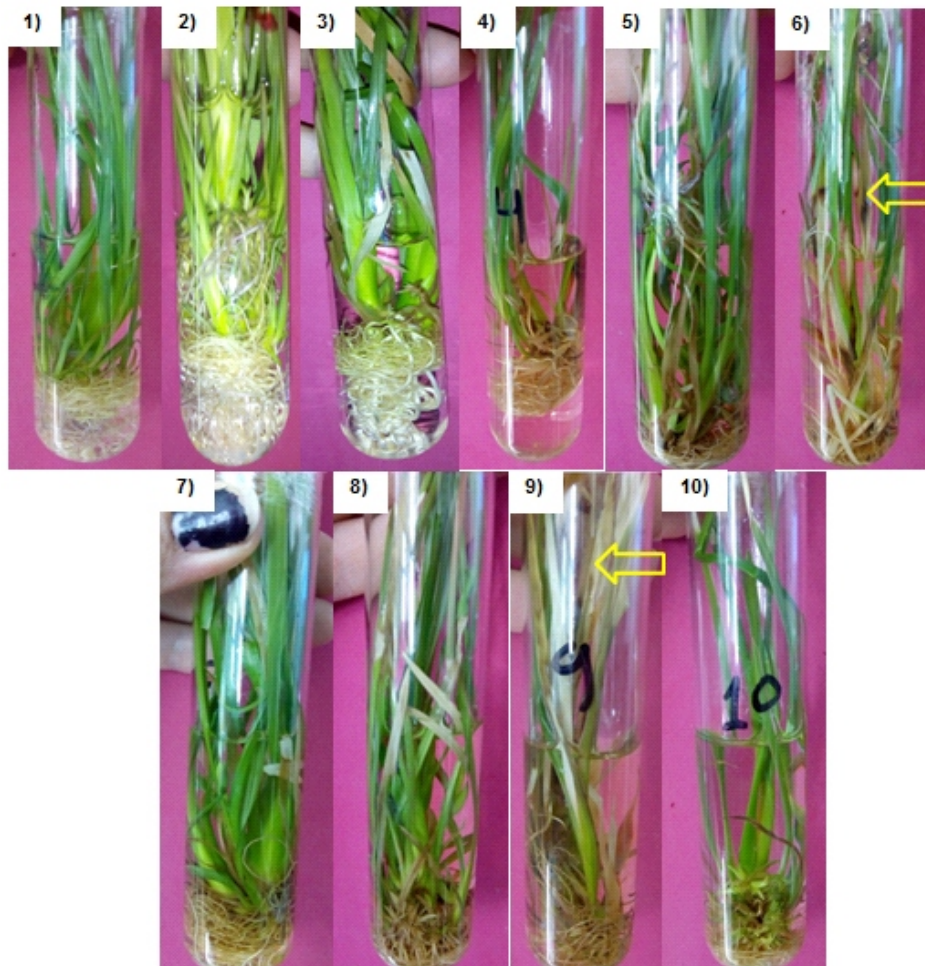


Figura 1. Respuesta de plántulas de vetiver a metales pesados *in vitro* a las 12 semanas de exposición. Tratamientos: 1) Pb 200ppm, 2) Pb 400ppm, 3) Pb 600ppm, 4) Hg 12ppm, 5) Hg 24ppm, 6) Hg 36ppm, 7) As 11ppm, 8) As 22ppm, 9) As 33ppm, 10) Control. Las flechas amarillas muestran áreas de clorosis en follaje.

Figure 1. Response of vetiver seedlings to heavy metals treatments *in vitro* at 12 weeks of exposure. 1) Pb 200ppm, 2) Pb 400ppm, 3) Pb 600ppm, 4) Hg 12ppm, 5) Hg 24ppm, 6) Hg 36ppm, 7) As 11ppm, 8) As 22ppm, 9) As 33ppm, 10) Control. The yellow arrows show areas of chlorosis in foliage.

Las plantas de vetiver expuestas con As fueron las que presentaron un menor tamaño, además de presentar raíces más pequeñas en comparación con las plantas del resto de los tratamientos, incluyendo el control. De acuerdo a los resultados obtenidos la concentración de metales pesados acumulados en la raíz fue alta, pero la traslocación de éstos fue baja en todos los tratamientos, dando como resultado un FT <1.0.

El follaje y la raíz fueron deshidratados por separado y cada una de las muestras se pesaron, para determinar el FT. La concentración de metales pesados en la planta completa se calculó a partir del peso de la raíz más el peso del follaje deshidratados, y la suma del peso del metal de ambas partes de la planta, para calcular el FBC. La concentración de metales pesados se determinó en $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ por medio de EAA (Tabla 2); en el caso de la parte aérea y raíz, se utilizó el procedimiento estándar para el análisis del arsénico y selenio en los suelos, sedimentos y sólidos, de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA, 1990); las concentraciones del medio MS líquido remanente se calcularon en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores del FBC en los tratamientos con Pb, Hg y As son >1 lo que significa que el pasto vetiver es una planta que puede acumular en sus tejidos estos elementos.

Dehydrated foliage and root separately from each sample were weighed to determine the TF. The heavy metal concentration in the entire plant was calculated from root weight plus the dehydrated foliage weight, and the sum of metal weight of both parts to calculate the BCF. The concentration of heavy metals was determined in $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ by means of AAS (Table 2); in the case of the aerial and root parts, the standard procedure was used for the analysis of arsenic and selenium in soils, sediments and solids of the United States Environmental Protection Agency (US-EPA, 1990); the concentrations in the remaining liquid MS medium were calculated in $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The BCF values in treatments with Pb, Hg and As are >1 which means that vetiver grass is a plant that can accumulate these elements in its tissues.

Discussion

The analysis of the concentrations of heavy metals accumulated in vetiver show how this plant has outstanding physiological characteristics in addition to a great tolerance to adverse conditions of its environment.

Tabla 2. Concentración de metales pesados cuantificados en pasto vetiver bajo condiciones *in vitro* mediante EAA. El FBC y el FT en las dos columnas de la derecha.

Table 2. Concentration of heavy metals quantified in vetiver grass under *in vitro* conditions by AAS. The BCF and TF in the two columns on the right.

Elemento	Concentración inicial (ppm)	Parte aérea ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	Raíz ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	Planta completa ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	MS remanente ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	FBC	FT
Pb	200	775.73	3583.33	1393.20	402.70	3.45	0.21
	400	1283.79	4853.84	2341.94	1015.47	2.30	0.26
	600	1508.21	4682.85	3020.55	1471.41	2.05	0.32
Hg	12	244.26	385.44	212.55	45.13	4.70	0.63
	24	237.92	876.75	313.22	135.92	2.30	0.27
	36	385.07	929.47	1237.24	150.70	8.21	0.41
As	11	185.81	378.27	192.08	46.57	4.12	0.49
	22	335.80	1153.30	450.72	62.35	7.22	0.29
	33	475.18	1567.10	557.31	90.40	6.16	0.30

Discusión

El análisis de las concentraciones de metales pesados acumulados en pasto vetiver muestran que esta especie posee características fisiológicas sobresalientes y una gran tolerancia a condiciones adversas del medio ambiente.

Los metales pesados no pueden ser biodegradados en los sistemas biológicos y son dañinos debido a sus efectos tóxicos. La generación de especies oxígeno reactivas es una de las repuestas en plantas cuando son expuestas a altas concentraciones de metales pesados. Algunos síntomas visibles de los daños por este tipo de toxicidad incluye inhibición del crecimiento, alteraciones metabólicas, alteraciones de la reproducción, marchitamiento, clorosis, deshidratación, inhibición de la fotosíntesis y mortalidad (Torres *et al.*, 2007; Espinosa *et al.*, 2014). Algunas especies pueden retardar y disminuir el crecimiento radical cuando se exponen a altas concentraciones de metales pesados, dado que la raíz es el primer órgano de la planta afectada que es expuesto directamente (Rodríguez *et al.*, 2009). Sin embargo, plantas de pasto vetiver forman más raíces cuando se incuban en medio líquido nutritivo que contiene plomo. Este resultado sugiere que en la planta se implementa algún mecanismo para evadir la toxicidad del metal (Bolívar *et al.*, 2009). Las plantas pueden producir moléculas de bajo peso molecular del grupo de los tioles, por ejemplo glutatión o cisteína, las cuales tienen alta afinidad hacia los metales tóxicos, o pueden producir fitoquelatinas las cuales son polipéptidos ricos en cisteínas con la habilidad de unir metales, y estos complejos péptido-ión metálico son subsecuentemente transportados del citosol hacia la vacuola, donde estos son retenidos evitando el efecto deletéreo del metal pesado (Nikalje *et al.*, 2018). El menor crecimiento y clorosis en los tratamientos con Hg y As sugiere que hay inhibición del metabolismo con impacto en la fotosíntesis, como ha sido reportado en girasol donde As reemplaza a Mg en la molécula de clorofila, lo que conduce a desintegración de la clorofila y esto a su vez origina una drástica reducción de la fotosíntesis (Yavad *et al.*, 2014).

Heavy metals cannot be biodegraded in biological systems and are harmful due to their toxic effects. The generation of reactive oxygen species is one of the responses in plants when exposed to a high concentration of heavy metals. Some visible symptoms by this type of toxicity include growth inhibition, metabolic alterations, reproductive alterations, wilting, chlorosis, dehydration, inhibition of photosynthesis and mortality (Torres *et al.*, 2007; Espinosa *et al.*, 2014). Some species can retard and decrease radical growth when exposed to high concentrations of heavy metals, since the root is the first organ of the affected plant to be directly exposed (Rodríguez *et al.*, 2009). However, vetiver plants formed more roots when incubated in liquid nutrient medium containing lead. This result suggests that in the plant some mechanism is implemented to avoid the toxicity of heavy metal (Bolívar *et al.*, 2009). Plants can produce low molecular weight molecules from the group of thiols, for example glutathione or cysteine, which have high affinity towards toxic metals, or they produce phytochelatin which are cysteine-rich polypeptides with the ability to bind metals, and these metal peptide-ion complexes are subsequently transported from the cytosol to the vacuole where they are retained avoiding the deleterious effect of heavy metal (Nikalje *et al.*, 2018). The lower growth and chlorosis in treatments with Hg and As suggests that there is inhibition of the metabolism with an impact on photosynthesis, as has been reported in sunflower where As replaces Mg in the chlorophyll molecule, which leads to disintegration of chlorophyll and this leads to a drastic reduction of photosynthesis (Yavad *et al.*, 2014).

Although the levels of heavy metals absorbed by the aerial part were relatively low, it accumulates in its tissues, mainly in root, concentrations greater than 1000 mg of Pb and As per Kg of dry biomass, and in the case of Hg the concentrations are greater than 10 mg per Kg of dry matter. In this way, the BCF of Pb, Hg and As fluctuating between 2.05 and 8.21 indicating that this plant species is located in the category

Aunque los niveles de metales pesados absorbidos por la parte aérea en vetiver son relativamente bajos, esta acumula en sus tejidos, principalmente en la raíz, concentraciones mayores a 1000 mg de Pb y As por Kg de materia seca, y en el caso de Hg, la concentración es mayor a 10 mg por Kg de peso en materia seca. De esta manera, el FBC de Pb, Hg y As que fluctúa entre 2.05 y 8.21 indica que esta especie de planta se ubica en la categoría de “planta acumuladora” de estos metales pesados, y puede ser considerada como una alternativa para la reducción de estos metales en suelos, considerando además que es una planta fácil de establecer en campo, que requiere mínimo mantenimiento y contribuye a la conservación y saneamiento de suelos y aguas.

En resumen, los resultados de este estudio indican que pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) puede ser una opción para fitorremediación, específicamente indicado para fitoestabilización de suelos contaminados por metales pesados Pb, Hg o As, a través de la absorción y acumulación de estos metales, y posiblemente, en su caso, la extracción del metal pesado si se extrae la planta incluido el sistema radical.

Referencias

- Baker, A. J. M., (1981) “Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals”. *J. Plant Nutr.* 3: 643-654.
- Baker, A. J. M, Brooks, R. R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements a review of their distribution, ecology and phytochemistry.
- Bolívar, P., Contreras, F., Adams, E., García, A., Santos, F. y Adams, M. (2009). “Acumulación de mercurio por Vetiver en condiciones de invernadero en suelos contaminados de El Dorado, Estado Bolívar” Facultad de Agronomía UCV. Universidad de Salamanca España.
- Delgadillo, A. E., González, C. A., Prieto, F., Villagómez, J. R., Acevedo, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto
- of “accumulator” of these heavy metals and can be considered as a good alternative for the reduction of these metals in soils; considering also that it is an easy plant to establish, it requires a minimum of maintenance and contributes to the conservation and sanitation of soils and waters.
- In summary, the results of this study indicate that vetiver grass may be an option for phytoremediation and specifically indicated in phytostabilization of soils contaminated with Pb, Hg or As, through absorption and accumulation of metal (Pb, Hg or As), and possibly, where appropriate, the heavy metal extraction if the plant is removed including the radical system.

References

- de Ciencias Básicas e Ingeniería, Centro de Investigaciones Químicas, Centro de Investigaciones en Ciencias de la Tierra. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14: 597-612.
- DOF, Diario Oficial de la Federación. (2007). Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNART/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Espinosa, G., González, D. J., Ilizaliturri, C. A., Mejía, J., Cilia, G., Costilla, R., Díaz, F. (2014). Effect of Mining Activities in Biotic Communities of Villa de la Paz, San Luis Potosi, Mexico. Hindawi Publishing Corporation. *BioMed Research International*. Article ID 165046, 13 pages.
- Hernández, E., Mondragón, E., Cristobal, D., Rubiños, J. E., Robledo, E. (2009). Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México. Universidad Autónoma Chapingo. Colegio de Posgraduados. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15(2): 109-114.
- Marrero, J., Amores, I., Coto, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el

- saneamiento ambiental. Instituto Cubano de Investigadores de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. Vol. 46: 3, pp. 52-61.
- Murashige, T.; and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-97.
- Nikalje G.C., Suprasanna P. (2018) Coping With Metal Toxicity – Cues From Halophytes. *Front Plant Sci.* 9:1-11.
- Olivares, Elizabeth y Peña, Eder. (2009). “Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación”.
- Pareek A., Kumar A. (2013) Ethnobotanical and pharmaceutical uses of *Vetiveria zizanioides* (Linn) Nash: a medicinal plant of Rajasthan. *Int J Life Sci & Phar Res.* 4:L12-L18.
- Rodríguez, M. A., Delgado, A., González, M. C., Carrilo, R., Mejía, J. M., Vargas, M. (2009). Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. Vol. 35. No 1.
- Secretaría de Economía de México (2006). Informe Anual, Anuario de la Minería Mexicana, México: Autor, Gobierno de México.
- Torres, G; Navarro, A; Languasco 1, J; Campos, K. y Cuizano, N. (2007). Estudio preliminar de la fitoremediación de cobre divalente mediante *Pistia stratioides* (lechuga de agua). Lima, PE. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, Vol. 3. pp 13-20.
- US EPA. 1990. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organism. Fourth Edition. Report 600/4-90/027F
- Wildschut, L. (2013). Mercados potenciales de tecnologías de biorremediación con Vetiver. Escuela de Organización Industrial. Madrid.
- Yadav G, Srivastava PK, Singh VP, Prasad SM (2014) Light intensity alters the extent of arsenic toxicity in *Helianthus annuus* L. seedlings. *Biol Trace Elem Res* 158: 410-421.
- Yoon, J., X. Cao, Q. Zhou and L.Q. Ma. (2006) “Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site”.