UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA: INGENIERIA AMBIENTAL

Trabajo de Titulación previa a la obtención del Titulo de

Ingeniera Ambiental

Título:

VALORACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS NATIVOS DEL BOSQUE PROTECTOR AGUARONGO EN LA BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS

Autora:

Karen Estefanía Zhunio Suin

Tutor:

Dr. Ernesto Delgado Fernández, PhD

CUENCA – ECUADOR

Octubre, 2016

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Karen Estefanía Zhunio Suin, con documento de identificación N° 0106000144, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de grado intitulado "VALORACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS NATIVOS DEL BOSQUE PROTECTOR AGUARONGO EN LA BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS", mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de Ingeniera Ambiental en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 14 Octubre del 2016

……

Nombre: Karen Estefanía Zhunio Suin

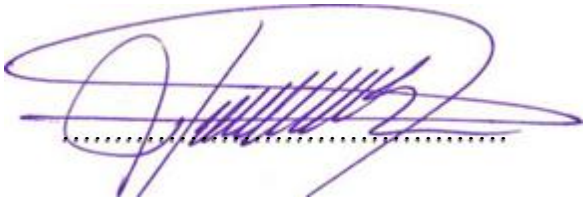
Cédula: 0106000144

CERTIFICADO

Declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación "VALORACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS NATIVOS DEL BOSQUE PROTECTOR AGUARONGO EN LA BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS" realizado por la Srta. Karen Estefanía Zhunio Suin, este trabajo experimental cumple con todos los requisitos establecidos por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerado como trabajo de titulación.

Cuenca, Octubre del 2016

Firma:



.....

Manuel Ernesto Delgado Fernández

0102073780

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Karen Estefanía Zhunio Suin, con número de cédula 0106000144 autora del trabajo de titulación: "VALORACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS NATIVOS DEL BOSQUE PROTECTOR AGUARONGO EN LA BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS" declaro que el total del contenido de ésta investigación es de mí exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, Octubre del 2016

……

Karen Estefanía Zhunio Suin

0106000144

DEDICATORIA

Al principio puse mi mirada en ti y confié en tus manos mi destino porque tú eres quien alumbra mi camino y sé que adonde quiera que vaya tu estarás conmigo este triunfo te lo debo a ti JESÚS

Mi mejor bendición mi pequeño Dylan tú fuiste al final esa luz que me impulsó aún más para luchar con todas mis fuerzas para llegar aquí.

A mi madre que un día le prometí que llegaría a cumplir sus sueños y porque siempre estuvo conmigo en las buenas y malas.

A mi tía Nancy Suin que sin su apoyo con mi pequeño no podría haber llegado aquí.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Politécnica Salesiana y a todos los docentes de la carrera de Ingeniería Ambiental que me han brindado sus conocimientos y amistad, a lo largo de la carrera, a los laboratorios Ciencias de la Vida que gran parte del trabajo se los realizo es este lugar y un especial agradecimiento al Dr. Ernesto Delgado por toda su paciencia y apoyo; sin lugar a duda una excelente persona y ejemplo a seguir.

RESUMEN

Este estudio tiene como propósito valorar hongos filamentosos nativos del Bosque Protector Aguarongo en la biosorción de metales pesados (Pb, Cr y Hg) es importante profundizar en el conocimiento del tema, y aportar al conocimiento, para poder aplicar este tipo de tecnología a campo abierto.

La investigación consta de dos partes: una valoración visual de la capacidad de tolerancia de 26 cepas de hongos filamentosos, la selección de 3 cepas, y la valoración de estas mediante análisis químico analítico: MÉTODO.- 28 Standard Methods No. 3030 B, 3111 B; 29 Standard Methods No. 3030 B, 3111 B; 34 EPA 3015A- EPA 245.1-EPA 7470A.

Las cepas funginas Y1 (*Trichoderma* sp) J1 (*Penicilium* sp) y BP3M1-K (*Trichoderma* sp) pertenecen al cepario de hongos filamentosos de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

Las medias de los grupos de datos que se refieren a la concentración inicial y final, de las soluciones de los metales (Pb, Cr y Hg) son altamente significativos estadísticamente, lo que pone en evidencia la capacidad de las cepas funginas para tolerar y biosorber metales pesados.

INDICE

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR I
CERTIFICADO II
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD III
DEDICATORIA IV
AGRADECIMIENTO V
RESUMEN VI
INDICE VII
1. INRODUCCIÓN 1
2. OBJETIVOS 2
2.1 Objetivo General 2
2.2 Objetivos Específicos 2
3. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 3
3.1 Generalidades 3
3.2 Metales Pesados 3
3.2.1 Los metales pesados y el medio ambiente 5
3.2.1.1 Plomo (Pb) 5
3.2.1.2 Cromo (Cr) 6
2.2.1.3 Mercurio (Hg) 7
3.3 Normativa Ambiental en el Ecuador 8
2.4 Métodos para recuperar ambientes contaminados con metales pesados 9
3.4.1 Fisicoquímicos 9
3.4.2 Biológicos 9
3.5 ¿Qué son los hongos? 10
3.6 Biosorción y sus mecanismos 10
3.7 Metabolismo fúngico 11
3.8 Estado del arte 11
4 MATERIALES Y METODOS 13
4.1 Determinación de condiciones óptimas de Acidez y Alcalinidad. 13
4.2 Capacidad de tolerancia 14
4.3 Valoración de la capacidad de biosorción *in vitro* 14
4.4 Diseño experimental 15
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 15
5.1 Capacidad de tolerancia preliminar 15

5.2 Capacidad de tolerancia de las cepas fúngicas frente a metales pesados. 16
5.3 Capacidad de Biosorción 34
5.4 DISCUCIÓN 39
6. CONCLUSIONES 39
7. RECOMENDACIONES 40
BIBLIOGRAFÍA 40
8. APENDICE/ANEXOS 45

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1 Gráfico de barras del porcentaje de tolerancia de las cepas frente a los metales (Pb, Cr y Hg) 34
Figura 2 Biosorción de metal Cromo 35
Figura 3 Intervalos de confianza de las concentraciones inicial y final. 36
Figura 4 Biosorción de cromo total en 2 concentraciones, 250 y 500 mg/l 37
Figura 5 Biosorción de plomo en 2 concentraciones, 250 y 500 mg/l 38
Figura 6 Biosorción de Mercurio en 2 concentraciones, 250 y 100 mg/l 38

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1 Limites de descarga a un cuerpo de agua dulce 8
Tabla 2 Resultados de la capacidad de tolerancia visual de las cepas de hongos filamentosos sobre los metales (Pb, Cr y Hg). 16
Tabla 3 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente al metal **CROMO (Cr)** 17
Tabla 4 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BU1X** frente a metal **CROMO (Cr)** 18
Tabla 5 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente a metal **CROMO** (Cr) .. 19
Tabla 6 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **P2** frente a metal **CROMO (Cr)** . 20
Tabla 7 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP1M1- Q** frente al metal **CROMO (Cr)** 21
Tabla 8 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP2M2-07** frente al metal **CROMO** (Cr) 22
Tabla 9 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente al metal **CROMO (Cr)** 23
Tabla 10 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **CP3M1-Y1** frente a metal **CROMO** (Cr). 24
Tabla 11 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente a metal **PLOMO** (Pb)25
Tabla 12 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente al metal **PLOMO (Pb)** 26
Tabla 13 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente a metal **PLOMO (Pb)** 27
Tabla 14 Valoración de la capacidad tolerante de la colonia **CP1M2-XS-D** frente al metal **PLOMO (Pb)** 28

Tabla 15 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente al metal **MERCURIO (Hg)** 29
Tabla 16 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente a metal **MERCURIO** (Hg) 30
Tabla 17 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente al metal **MERCURIO (Hg)** 31
Tabla 18 Valoración de la capacidad tolerante de cepa AP1M1-05 frente al metal MERCURIO (Hg) 32
Tabla 19 Valoración de la capacidad tolerante de la colonia **CP1M2-XS-D** frente al metal **MERCURIO (Hg)** 33
Tabla 20 Resultados de las concentraciones de cromo, plomo y mercurio total..... 36

LISTADO DE ANEXOS

ANEXO 1 Glosario de Términos 45

1. INRODUCCIÓN

Durante la explotación minera algunos metales son abandonados en escombreras como material de desecho, y en las minas quedan como pasivos ambientales, aunque el mayor problema es la minería artesanal, por la falta de manejo técnico en este tipo de actividad.

"La mayor causa de emisión de metales pesados son las fuentes antropogénicas, especialmente las operaciones de la minería" (Hutton & Simon, 1986). En algunos casos, aun después de muchos años que las actividades mineras han cesado, la emisión de metales sigue persistiendo en el ambiente. Los depósitos de agua son los más enfáticamente contaminados ya que los metales son lixiviados y arrastrados por desbordes de los diques, como agua ácida hacia los desagües naturales, que finalmente terminarán en el mar. (Garbarino, *et al*., 1995)

Los metales pesados principalmente tienen efectos en la salud de la población, la ingesta de alimentos contaminados representa un riesgo inminente de intoxicación, debido a su biotransformación y magnificación biológica a través de la cadena trófica en el caso del mercurio (Hg) por ejemplo, en la intoxicación por plomo (Pb) se presentan alteraciones digestivas, dolores epigástricos, abdominales, vómitos, alteraciones renales, hepáticas, convulsión entre otros; (INEC, 2012) y en el caso del Cr (VI) es altamente tóxico para todas las formas de vida. (Losi, Amrhein, & Frankenberger et al, 1994).

Se conoce que en la actualidad los pueblos de la Sierra, Costa y Amazonia, en el Ecuador, continúan lavando oro de manera tradicional; (Cisneros, 2008) e igualmente existen explotaciones mineras, sin un control adecuado en el manejo de este tipo de actividades, la preocupación debido a la contaminación ambiental ha dado como

resultado, que los procesos investigativos sean más intensos y se desarrollen tecnologías amigables con el medio ambiente.

Nuestro país, se encuentra dentro de los lugares más biodiversos del planeta, su territorio forma parte de varios de los ecosistemas más importantes, con una biodiversidad única. El Bosque Protector Aguarongo, es un área protegida ubicada en la cuenca del río Paute, tiene una extensión de 2.082 hectáreas y se encuentra entre los 2.500 y 3.200 msnm, en 1984 fue declarada como vegetación protectora, el bosque es el principal proveedor de agua a varias comunidades de los cantones Gualaceo, Sigsig y Cuenca. (Barrera, 2015).

Producto de un trabajo experimental desarrollado anteriormente por la Universidad Politécnica Salesiana, se aislaron hongos filamentosos nativos, de 3 pisos altitudinales del ABVPA, la valoración de la capacidad de biosorción de metales pesados (Hg; Pb; y Cr) por intermedio de hongos filamentosos seleccionados, es el propósito de esta investigación, en este contexto se contribuirá al conocimiento de los procesos de biosorción, que podría ser aplicado a campo abierto para mitigar el impacto ambiental producido por la explotación minera artesanal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Valorar la capacidad de biosorción de hongos filamentosos nativos del Bosque Protector Aguarongo frente a metales pesados (Pb, Cr y Hg)

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las variables que intervienen en el proceso de Biosorción de Pb, Hg y Cr.

- Determinar las condiciones óptimas de acidez y alcalinidad en el proceso
- Analizar la capacidad de tolerancia de las cepas funginas frente a diferentes concentraciones de Pb, Cr y Hg.
- Establecer el número de cepas funginas con inminente capacidad de Biosorción de metales pesados.

3. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

3.1 Generalidades

Los hongos filamentosos y levaduras, han sido reportados como eficientes materiales biosorbentes de numerosos elementos metálicos. (Covarrubias, García, & Peña, 2015) La acumulación de metales en estos microorganismos se da como resultado por propósitos metabólicos, y por los constituyentes de la pared celular. (Gadd G. , 1993) Estudios han determinado el efecto de los metales sobre cultivos de hongos metabólicamente activos, mientras que otros reportes analizan la biomasa inactivada de hongos que da lugar a la biosorción pasiva de metales. (Chávez, *et al*., 1993)

3.2 Metales Pesados

El término metales pesados se aplica a cualquier elemento metálico que tenga una densidad relativamente alta y que sea tóxico, aun en bajas concentraciones (Lenntech, 2004). "Metales pesados" es un término generalmente colectivo, que se aplica al grupo de metales con una densidad específica mayor a 4 g/cm^3 (Nriagu & Pacyna, 1988) pero mayoritariamente se enfoca en sus propiedades químicas.

De acuerdo a la lista de contaminantes prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, los metales tóxicos son: As, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Ti, Se y Pb. (USEPA, 2014)

Los metales pesados en el suelo pueden acumularse por la meteorización natural y la intervención directa de la actividad humana como: el vertimiento de desechos mineros (Boussen, Soubrand, Bril, Ouerfelli, & Abdeljaoud, 2013) la deposición atmosférica proveniente de emisiones de fuentes vehiculares (Blake & Goulding, 2002) e industriales (Nicholson, Smith, Alloway, Carlton, & Chambers, 2003) y la aplicación en cultivos agrícolas como fertilizantes, fungicidas y herbicidas con alto contenido de As, Pb y Cu (Alloway et al, 2013) (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007)

En todo el mundo, el principal problema ambiental es la contaminación por metales pesados, ya que se utilizan en procesos industriales y las aguas residuales de estas industrias tienen efectos tóxicos perpetuos en los seres humanos y el medio ambiente. (Anonymous *et al*, 2004) Los metales pesados tóxicos que llegan al ecosistema pueden provocar geo acumulación, bioacumulación y biomagnificación. (Ward *et al*, 1995)

Los metales son móviles generalmente a un pH bajo, (Alloway *et al*, 2013) dichos metales a pH alcalino forman carbonatos o fosfatos minerales insolubles, (Volke-Sepúlveda, Velasco-Trejo, & De la Rosa-Pérez, 2005) la oxidación relativa de los metales en ambientes anaerobios o suelos húmedos, conlleva a la precipitación del metal debido a la presencia de iones ferrosos y carbonatos, mientras que bajo condiciones oxidantes los metales se hacen más solubles (Alloway *et al*, 2013) con esto se tiene que uno de los principales factores que determinan la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo, es la presencia de la materia orgánica (Zeng, *et al*., 2011) cuando existe un alto contenido de esta, disminuyen la disponibilidad de metales pesados mediante la

formación de complejos con las sustancias húmicas presentes en ella. (Clemente, Escobar, & Pilar *et al*, 2006)

3.2.1 Los metales pesados y el medio ambiente

3.2.1.1 Plomo (Pb)

Es un elemento químico localizado en la tabla periódica en el grupo IV-A, con un número atómico 82, peso molecular 207.19 g/mol, las valencias químicas son 2 y 4, elemento con densidad específica de 11.4 g/cm^3 a una temperatura de 16ºC, se funde con facilidad a los 327.4ºC y su punto de ebullición es a 1725ºC; relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico, se disuelve con lentitud en ácido nítrico, es un elemento anfótero, forma sales metálicas a partir de los ácidos, como por ejemplo el ácido plúmbico. (Perry & Green, 2001)

En la naturaleza forma una gran variedad de minerales, entre los que se encuentran principalmente la galena (PbS), la anglesita (PbSO4) y la cerusita (PbCO). (Sancho, Verdeja, & Ballester *et al*, 2001)

El plomo tiene la capacidad de bioacumularse por lo que su concentración en plantas y animales se magnifica a lo largo de la cadena alimentaria. (Halliwell, Turoczy, & Stagnitti, 2000)

En suelos no cultivados se han encontrado de 8 a 20 mg/Kg de suelo, mientras que en terrenos cultivados puede llegar a encontrarse por encima de este valor (360 mg/Kg); cerca de fuentes de contaminación industrial, el suelo alcanza contenidos de 10 g /Kg o más. (Rubio, *et al*., 2004)

El plomo puede penetrar en el organismo por tres vías: respiratoria, digestiva y cutánea. (ARTSDR, 1993) Por vía respiratoria, la más importante en el medio laboral, se llega a absorber hasta el 40 % del plomo. (Wittmers & Aufderheide *et al*, 1988)

3.2.1.2 Cromo (Cr)

Es un metal de transición localizado en el grupo VI-B de la tabla periódica, con numero atómico 24, con una densidad específica de 7.19 g/cm^3, presentando un punto de ebullición de 2665ºC y un punto de fusión de 1875ºC (Wright *et al*, 2003) aunque puede existir en varios estados de oxidación, las formas más comunes y estables en el ambiente son el Cr (III) y el Cr (VI), las cuales poseen propiedades químicas distintas. El Cr (VI), se considera como la forma más tóxica del cromo, generalmente se presentan en forma de cromatos ($CrO4^{-2}$) y dicromatos (K2Cr2O7), que debido a su gran solubilidad son altamente móviles en el suelo y en ambientes acuáticos. Por otra parte, el Cr (III) se encuentra en forma de óxidos, hidróxidos o sulfatos, son poco solubles, menos móviles, que se encuentra generalmente en la materia orgánica del suelo. (Palmer & Wittbrodt, 1991)

El Cr (VI) en presencia de materia orgánica se reduce a Cr (III) (McGrath & Smith *et al*, 1990) pero a altos niveles de Cr (VI) sobrepasan la capacidad reductora del ambiente. El cromo en sus diversas formas se encuentra en efluentes provenientes de fuentes industriales, ya que es ampliamente utilizado en distintas actividades, como aleación de metales, curtido de pieles, fabricación de explosivos, cromado electrolítico, fabricación de colorantes y pigmentos, entre otros. (Calder *et al*, 1988)

El problema del Cr VI es que atraviesa fácilmente las membranas biológicas (Borst & Pauwels, 1981) lo que puede provocar mutanogénesis y carcinogénesis en animales. (Losi, Amrhein, & Frankenberger *et al*, 1994)

El Cr (III) funciona como un oligoelemento esencial para los seres humanos aunque en altas concentraciones muestran los mismos efectos tóxicos del Cr (VI) en altas concentraciones. (Wong & Trevors *et al*, 1988)

La acumulación del cromo sobre poblaciones de microorganismos del suelo ha sido ampliamente estudiada, así como la aparición de organismos adaptados que significa que son tolerantes a ambientes hostiles. (Cervantes, *et al*., 2001).

2.2.1.3 Mercurio (Hg)

Es un metal que pertenece al grupo II-B de la tabla periódica cuyo símbolo químico (Hg), proviene del latín ”Hidrargyrum” que significa “plata liquida”, debido que a temperatura ambiente es un líquido brillante, plateado y sin olor, tiene una densidad de 13.6 g/cm^3, su punto de fusión es a -38.8°C y su punto de ebullición es a 356.6°C, puede encontrarse en tres estados de oxidación: elemental, mercurioso, mercúrico; los cuales determinan sus propiedades y comportamiento. (Fernandez, Sierra, Villadóniga, & Millán, 2010) Este es liberado en el ambiente en su forma elemental y se transforma por la acción de los microorganismos de los sedimentos en mercurio orgánico conocido como metil mercurio $(CH3-Hg)^+$, molécula que actúa con un conjunto de reacciones bioquímicas y procesos fisicoquímicos transformándose en un elemento tóxico. (Pacyna, *et al.*, 2010) Este se adhiere fácilmente a los sedimentos, además de que se bioacumula y se biomagnifica a través de las cadenas tróficas. El metil mercurio es un potente neurotóxico, afecta el sistema nervioso y el desarrollo del cerebro humano, además puede

atravesar la barrera placentaria. (USEPA, 2014). De forma natural está presente en los ecosistemas debido a los procesos geológicos como la erosión, la desgasificación de la corteza terrestre, las emisiones volcánicas (Gustin, Lindberg, & Weisberg, 2008) y como resultado de procesos antrópicos (Streets, Zhang, & Wu, 2009) incluyendo las actividades industriales y la minería artesanal, el mercurio metálico se usa para formar amalgamas y recoger partículas de metales. (Lacerda & Salomons, 1998)

3.3 Normativa Ambiental en el Ecuador

La norma técnica ambiental revisada y actualizada está dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental. En esta se establece los principios básicos para el control de la contaminación del agua, los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos, los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado de actividades industriales o productivas, de servicios públicas o privadas para de esa manera proteger la calidad del recurso agua para preservar los usos asignados, la integridad de las personas, de los ecosistemas y del ambiente en general. (TULSMA, 2014)

Tabla 1 Limites de descarga a un cuerpo de agua dulce

Parámetro	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Cromo hexavalente	Cr^{+6}	mg/l	0.5
Plomo	Pb	mg/l	0.2
Mercurio total	Hg	mg/l	0.005

Nota: En la tabla se muestran valores tomados de la Norma De Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes Al Recurso Agua en mención de los metales utilizados en este proyecto.

Fuente: Anexo 1 del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente:

2.4 Métodos para recuperar ambientes contaminados con metales pesados

3.4.1 Fisicoquímicos

Los de mayor auge en la actualidad, se incluyen: precipitación química, intercambio iónico, ósmosis inversa y adsorción. Estos, aunque efectivos presentan varias desventajas cuando son aplicados a efluentes industriales constituidos por soluciones metálicas diluidas. Entre las desventajas se pueden mencionar los costos en términos energéticos y el consumo de productos químicos. Además, la precipitación química aunque efectiva para la eliminación de metales pesados, crea un nuevo problema ambiental*: el de los lodos que después tendrán que ser almacenados* (Reyes, Cerino, & Suárez, 2006)

3.4.2 Biológicos

Los microorganismos son una alternativa potencial para la recuperación de metales en soluciones industriales, este proceso se conoce como biosorción, que se fundamenta en las interacciones fisicoquímicas de la biomasa microbiana y el metal pesado. (Rivas, Gutiérrez, & Merino, 2004)

Varios estudios han demostrado que la biomasa de diferentes especies de bacterias, hongos y algas son capaces de concentrar en su estructura iones metálicos que se encuentran en ambientes acuáticos. (Basso, Cerrella, & Cukierman *et al*, 2002)

En los últimos años, la tecnología de biosorción, basada en la habilidad de ciertas biomasas de capturar especies metálicas de soluciones acuosas, ha recibido especial atención por su potencialidad para el tratamiento de aguas residuales. (Volesky, 2004)

El suelo es una capa delgada de material sobre la superficie de la tierra en el que las plantas tienen sus raíces, es el hábitat principal para todas las especies. La microbiota

del suelo está implicada en la descomposición y la producción de compuestos orgánicos, el ciclo de los nutrientes de las plantas y la meteorización de los minerales primarios. (Parkinson & Coleman *et al,* 1991)

Los hongos filamentosos presentan una considerable tolerancia frente a los metales pesados, por su capacidad de convertirse en organismos dominantes en algunos hábitats contaminados. (Martino, Turnau, Girlanda, Bonfate, & Perroto, 2000) La capacidad de tolerancia incluye la transformación de valencia, la precipitación adicional intracelular y la captación activa. (Gadd G. , 1993)

3.5 ¿Qué son los hongos?

Organismos eucariotas que pertenecen al Reino Fungi, se incluyen levaduras y mohos, las paredes celulares de los hongos contienen quitina y la pared celular de plantas contiene celulosa, que es su principal diferencia. (Bowman & Free, 2006). Son un componente importante de la microbiota del suelo, en comparación con las bacterias se encuentran en mayor proporción, de acuerdo a la profundidad del suelo y las condiciones de nutrientes. (Ainsworth & Bisby, 1995). Se conocen, por su capacidad de acumular grandes cantidades de metales. (Morley & Gadd *et al*, 1995) .Por lo expuesto, los hongos tienen gran importancia en el área de la Biotecnología Ambiental.

3.6 Biosorción y sus mecanismos

El término “biosorción”, se utiliza para referirse a la captación de metales mediante el uso de biomasa (viva o muerta), a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico, cuando se utiliza biomasa viva, los mecanismos metabólicos de captación también pueden contribuir al proceso. La

biosorción involucra una fase sólida (sorbente) y una fase líquida (solvente, normalmente el agua que contenga iones metálicos). (Cañizares, 2000)

El proceso de biosorción presenta una serie de ventajas, por ejemplo, operación a bajos costos, reducción del volumen de lodos químicos y biológicos, alta eficiencia en la destoxificación de efluentes, además de que no requiere nutrientes comparado con los métodos convencionales para la eliminación de metales tóxicos de efluentes industriales. (Basha & Jha *et al*, 2008). En este sentido, la utilización de biomasa fúngica para la eliminación de metales pesados, cada vez se vuelve más importante. (Galun, *et al.*, 1987) (Holan & Volesky, 1995) (Kiff & Little, 1986)

3.7 Metabolismo fúngico

Algunos microorganismos fúngicos exhiben propiedades biosorbentes y efectos eficientes en la remoción y transición de iones metálicos desde una solución (Muzzarelli *et al*., 1986) Debido a que en sus paredes celulares tienen melaninas fúngicas que pueden aparecer en forma de depósitos y gránulos densos (Bell & Wheeler, 1986) las cuales presentan muchos sitios potenciales de unión a un metal, ya que contienen péptidos, hidratos de carbono y ácidos grasos. (Sakaguchi & Nakajima, 1987) Una variedad de metales pesados puede inducir o acelerar la producción de melanina en los hongos. (Mowll & Gadd, 1984) (Senesi, Sposito, & Martin, 1987) (Gadd G. , 1988)

3.8 Estado del arte

Entre los estudios más recientes resultantes del tema en cuestión, se resumen los siguientes:

En la biosorción de plomo por *Saccharomyces cerevisiae,* se demostró que durante los primeros 5 minutos del proceso se da la mayor tasa de retención de plomo, con un pH

5.0 y una temperatura de 25 °C; la capacidad máxima biosorbente de la levadura, bajo estas condiciones, fue de 0.5 g de Pb/g de biomasa (Gutiérrez, González, Sánchez, & Mellado, 2008). En otra investigación se utilizan los hongos *Aspergillus niger* y *Penicillium* sp con soluciones a diferentes concentraciones de los metales (Ni^{2+}, Cd^{2+} y Cr^{6+}) y se demuestra que estos hongos tienen un alto nivel de tolerancia a los metales y propiedades de biosorción. (Ahmad, Ansari, & Aqil, 2006)

Gutiérrez Corona, reporta especies de hongos filamentosos y levaduras como biotransformadores de metales, realiza un estudio sobre los mecanismos de interacción con cromo (Cr) (Gutiérrez, *et al*., 2010)

En un estudio realizado sobre la biosorción de metales pesados, para el caso del Cromo (Cr) y Estaño (Sn) mediante la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se demostró la capacidad de esta cepa para biosorber estos metales de efluentes con trazas de otros metales. En el proceso se logra determinar que, al inicio la biosorción es rápida, y que en una segunda fase es más lenta. Durante los primeros 40 minutos se acumula cromo, y luego de 60 minutos estaño (Van Wyk, 2011).

La remoción de Cromo (Cr VI) por el hongo *Paecilomyces* sp mediante 1 g de biomasa, demuestra que con una y tres horas de incubación se elimina 297 mg de Cr (VI)/g de tierra contaminada. (Cárdenas & Acosta, 2011)

Diferentes tipos de biomasas fúngicas son capaces de remover entre el 60 y 100% de mercurio (Hg) y plomo (Pb) entre los géneros más representativos están: *Helmintonsporium sp, Mucorrouxi IM, Aspergillus flavus y Mucor sp* (Rodríguez, González, & Juárez, 2012)

Otros géneros que se reportan son: *Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus Aspergillus terreus, Penicillium sp, Aspergillus versicolor, Aspergillus flavus, Fusarium oxysporum, Aspergillus niger* se probó la tolerancia de estos frente a: Cu (SO4)2 5H2O, Cd (NO3)2, Cr (NO3)2 y Pd (NO3)2. *El grado de tolerancia se midió por el crecimiento radial en la presencia de varios metales pesados y en comparación con un control*. Se concluyó que los aislamientos de *Penicillium sp y Aspergillus flavus* muestran el máximo índice de tolerancia 2,1 a 100 ppm hacia Cr y 4,8 a 100 ppm hacia Cd. *Aspergillus versicolor* presentó mayor índice de tolerancia hacia Cu y Pb. (Rasool, 2014)

La biomasa de hongos *Penicillium sp.* provenientes de un suelo contaminado en una mina, se utilizaron para valorar la capacidad de remoción de metales pesados. Las soluciones se formaron con plomo (Pb II), cadmio (Cd II) y mercurio (Hg II) (1000mg/l). Los resultados mostraron una alta capacidad de remoción de este género fúngico, lográndose una adsorción de 51.5mg/l. (Castellón, Negrete, & Cardenas, 2014)

4 MATERIALES Y METODOS

Los ensayos *in vitro*, se desarrollaron en el Laboratorio Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Se valoraron 26 cepas de hongos filamentosos aislados de muestras de suelo del Bosque Protector Aguarongo, los mismos están clasificados por género y forman parte de un cepario institucional, la capacidad de tolerancia se valoró frente a 3 metales (Pb, Cr, y Hg) en forma de sales.

4.1 Determinación de condiciones óptimas de Acidez y Alcalinidad.

Para determinar la capacidad de biosorción de metales por la biomasa fúngica, es necesario establecer las condiciones óptimas para la remoción de (Pb, Cr, y Hg) para este caso de estudio. En este sentido es preciso direccionar el proceso para poder lograr el mayor índice de biosorción, el pH se corrigió a 5.0 y la temperatura a 25 °C (Gutiérrez, et al., 2010)

4.2 Capacidad de tolerancia

En cajas petri con medio PDA, se colocaron soluciones de los metales (Pb, Cr, y Hg); se inocularon las cepas de hongos sobre las soluciones, este análisis es preliminar, y busca determinar el comportamiento de las cepas frente a los metales.

El desarrollo de las cepas, se expresa en porcentajes en base al crecimiento radial, el porcentaje de inhibición de crecimiento radial PICR, se obtiene en base a la siguiente ecuación: R1-R2/R1*100 (Suárez, Fernández, Valero, Gámez, & Páez, 2008).

4.3 Valoración de la capacidad de biosorción *in vitro*

En matraces de 1000ml se prepararon soluciones de las sales que contienen los metales (Pb, Cr, y Hg); se inoculó la biomasa fúngica de 3 cepas seleccionadas en cada solución para determinar la concentración inicial y final.

El método de análisis químico analítico utilizado es: Espectrofotometría de absorción atómica (A-A) llama, aire-acetileno. MÉTODO: 28 Standard Methods No. 3030 B, 3111 B; 29 Standard Methods No. 3030 B, 3111 B; 34 EPA 3015A- EPA 245.1-EPA 7470A.

4.4 Diseño experimental

Para determinar si existe diferencia estadística entre las medias de los grupos de datos se hace una prueba de varianza (Método de Levene) nivel de significancia (α=0,05). Cuando el valor (P) es menor al nivel de significancia, se establece la significatividad estadística de las medias de los grupos de datos, mediante este análisis, se aceptan o rechazan las hipótesis nula o alternativa.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base a la metodología, se determina que las variables que intervienen en el proceso de biosorción son:

Variable	Valor
pH	5
Tiempo	7 días
Temperatura	25 ª C

Tabla 2 Variables que intervienen en el proceso.

Las condiciones de acidez y alcalinidad en este ensayo, se mantienen en un rango de pH 5.0

5.1 Capacidad de tolerancia

Se fundamenta en la valoración visual preliminar, que busca determinar el comportamiento de los hongos frente a los metales, los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 Resultados de la capacidad de tolerancia visual de las cepas de hongos filamentosos sobre los metales (Pb, Cr y Hg).

CÓDIGO	ALTAMENTE TOLERANTE	TOLERANTE	POCO TOLERANTE	NO TOLERA
Y1	++++			
P2			++	
BP1M2-H				+
AP2M2-T		+++		
BP1M1-CH1			++	
BP1M1-Q			++	
J1	++++			
BP1M2-J				+
BP2M2-07		+++		
BP1M1_MTRAZ_ML				+
X1				+
BP2M2-B		+++		
BP2M2-A		+++		
BP3M1-C		+++		
BP3M2-R		+++		
BP1M1-Z		+++		
BP3M1-K	++++			
BP1M1-M				+
CP3M2-8			++	
CP3M1-7B			++	
CP1M2-XS-D		+++		
AP1M1-05		+++		
BP1M2-C			++	
CP3M1-Y1		+++		
AP2M1-07			++	

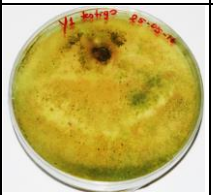
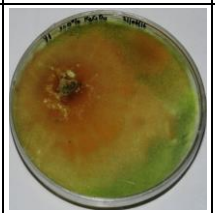
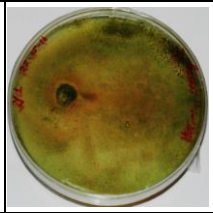
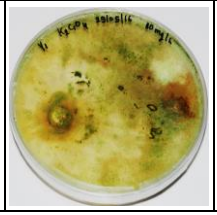
En la tabla, la simbología: (++++) Altamente tolerante, (+++) Tolerante, (++) Poco tolerante, (+) No tolera
Nota: El código de las cepas fúngicas pertenecen al cepario de la Universidad Politécnica Salesiana y se encuentran caracterizadas por su género, las cuales constan en el glosario de términos (Ver en anexo 1)

Fuente: La Autora

5.2 Capacidad de tolerancia de las cepas fúngicas frente a metales pesados.

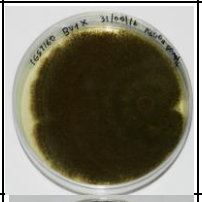
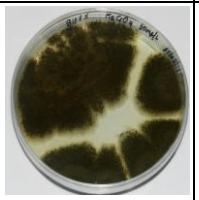
La capacidad de tolerar los metales, se expresa en porcentajes, los resultados se muestran desde la Tabla 3.

Tabla 4 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente al metal **CROMO (Cr)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	**% INHIBICIÓN**	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	10	25	35	45	65			La colonia cubre la caja en un período 146 horas.
100%	9	33	41	56	65	0.0		La colonia cubre la caja en un período 146 horas, lo que evidencia la capacidad de tolerancia de la cepa en este análisis.
50%	8	15	25	38	65	0.0		La colonia cubre la caja en un período 146 horas, lo que evidencia la capacidad de tolerancia de la cepa en este análisis.
10%	10	28	39	45	65	0.0		La colonia cubre la caja en un período 146 horas, lo que evidencia la capacidad de tolerancia de la cepa en este análisis.

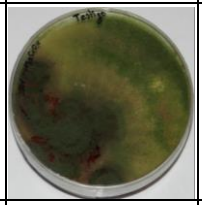
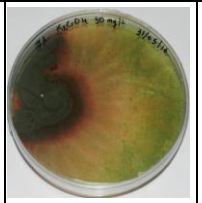
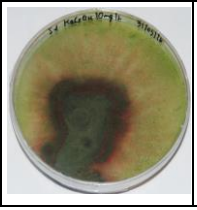
Resultado.- Este análisis pone en evidencia, la capacidad de tolerancia que tiene la cepa frente al metal cromo, el porcentaje de inhibición es (0,0) en un período de 146 horas. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 5 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BU1X** frente a metal **CROMO (Cr)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	**% INHIBICIÓN**	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	30	45	47	51	60			La colonia se desarrolla rápidamente y cubre el terreno contenido en la caja petri
´100%	9	15	18	21	23	61.7		La presencia del metal inhibe el desarrollo de la colonia, y el hongo comienza a esporular.
50%	10	22	23	25	25	58.3		La presencia del metal inhibe el desarrollo de la colonia, y el hongo comienza a esporular.
10%	15	19	21	23	24	60.0		La presencia del metal inhibe el desarrollo de la colonia, y el hongo comienza a esporular.

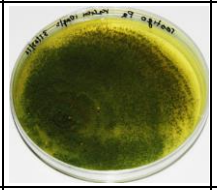
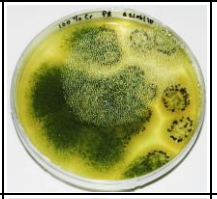
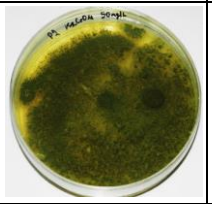
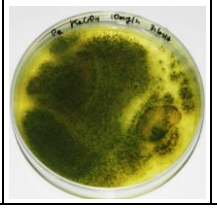
Resultado.- El porcentaje más alto se presenta cuando la concentración del metal es del 100% el porcentaje de inhibición es del 61.7%. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 6 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente a metal **CROMO** (Cr)

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	20	45	58	65	65			La colonia tiene un desarrollo un desarrollo rápido y progresivo
100%	14	33	56	65	65	0.0		La colonia se desarrolló en toda la caja sin ninguna interferencia con el metal dejándolo completamente cubierto.
50%	15	35	59	65	65	0.0		La colonia se desarrolló en toda la caja sin ninguna interferencia con el metal dejándolo completamente cubierto.
10%	25	31	60	65	65	0.0		La colonia se desarrolló en toda la caja sin ninguna interferencia con el metal dejándolo completamente cubierto.

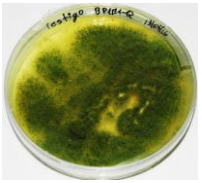
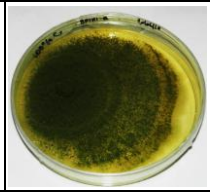
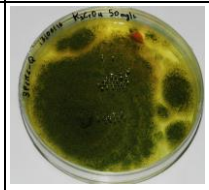
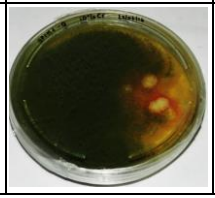
Resultado.- El porcentaje de inhibición en las 3 concentraciones es (0,0). ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 7 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **P2** frente a metal **CROMO (Cr)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas(mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	15	25	43	48	55			La cepa del hongo se desarrolla rápidamente y cubre el terreno contenido en la caja petri
100%	12	23	31	40	43	21.82		La cepa de hongo en la confrontación con el metal, inhibe su desarrollo y comienza a esporular.
50%	8	10	40	45	49	10.91		La cepa de hongo en la confrontación con el metal, inhibe su desarrollo y comienza a esporular.
10%	8	10	38	48	52	5.45		La cepa de hongo en la confrontación con el metal, inhibe su desarrollo y comienza a esporular.

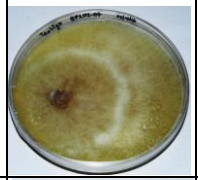
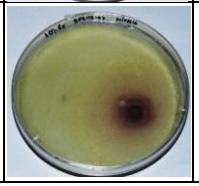
Resultado.- los porcentajes se muestran en la tabla, a menor concentración, es menor el porcentaje de inhibición. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 8 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP1M1- Q** frente al metal **CROMO (Cr)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	25	30	35	45	46			La colonia se desarrolla rápidamente y cubre el terreno contenido en la caja petri.
100%	11	17	23	34	39	15.22		El metal inhibe el desarrollo de la colonia
50%	20	25	40	42	45	2.17		El metal inhibe el desarrollo de la colonia
10%	11	21	29	34	45	2.17		El metal inhibe el desarrollo de la colonia

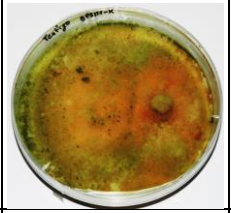
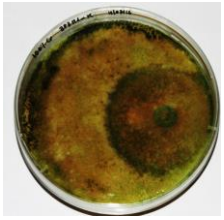
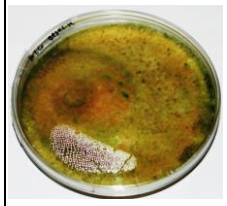
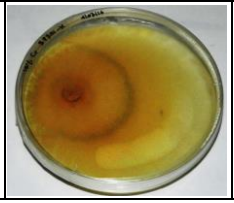
Resultado.- Los porcentajes de inhibición son bajos al 50 y 10 %. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 9 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP2M2-07** frente al metal **CROMO** (Cr)

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	7	11	22	28	33			La colonia se desarrolla rápidamente y cubre el terreno contenido en la caja petri.
100%	7	11	21	27	33	0.00		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial.
50%	5	9	16	28	33	0.00		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial.
10%	8	11	19	33	33	0.00		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial.

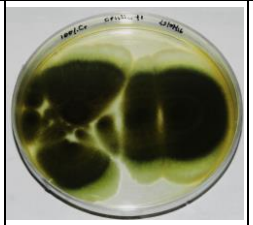
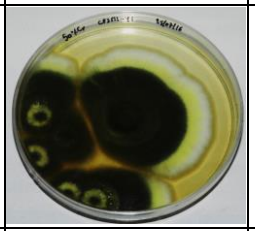
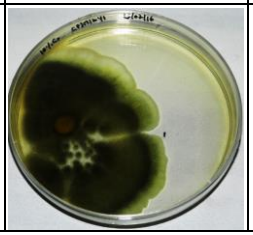
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0). ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 10 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente al metal **CROMO (Cr)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	22	41	53	60	65			La colonia se desarrolla rápidamente y cubre el terreno contenido en la caja petri.
100%	23	44	60	60	65	0.0		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial, aunque se puede evidenciar que la colonia crece en relación al tiempo más rápidamente.
50%	25	60	65	65	65	0.0		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial, aunque se puede evidenciar que la colonia crece en relación al tiempo más rápidamente.
10%	24	65	65	65	65	0.0		La cepa fungina tolera la presencia del metal, siendo su desarrollo similar al testigo referencial, aunque se puede evidenciar que la colonia crece en relación al tiempo más rápidamente.

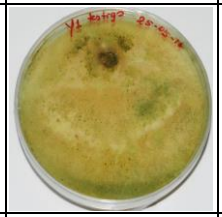
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 11 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **CP3M1-Y1** frente a metal **CROMO** (Cr).

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	9	16	27	30	32			La se desarrolla rápidamente, con el desprendimiento de esporas.
100%	7	17	29	30	32	0.0		La cepa se desarrolla de forma similar al testigo
50%	8	19	28	31	32	0.0		La cepa se desarrolla de forma similar al testigo
10%	8	18	27	29	32	0.0		La cepa se desarrolla de forma similar al testigo

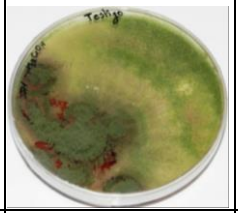
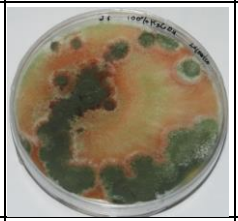
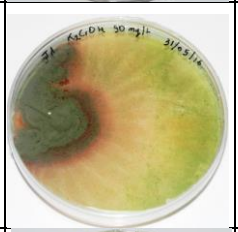
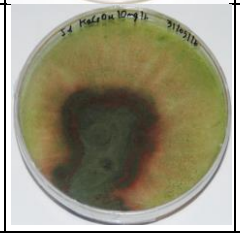
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 12 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente a metal **PLOMO** (Pb)

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	10	25	35	45	65			La colonia tiene un desarrollo rápido y progresivo
100%	18	23	31	65	65	0.0		El comportamiento de la cepa a esta concentración es similar al testigo referencial
50%	19	24	33	65	65	0.0		El comportamiento de la cepa a esta concentración es similar al testigo referencial
10%	19	29	35	65	65	0.0		El comportamiento de la cepa a esta concentración es similar al testigo referencial

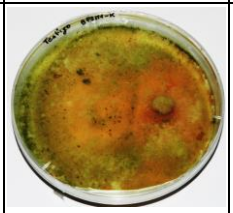
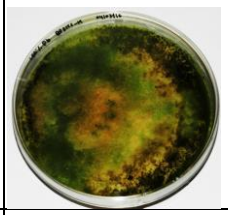
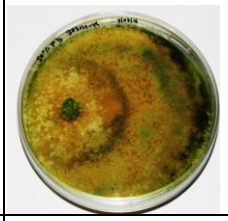
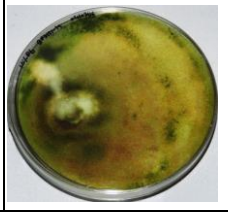
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 13 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente al metal **PLOMO (Pb)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	20	45	58	65	65			La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva.
100%	14	33	56	65	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
50%	15	35	59	65	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
10%	25	31	60	65	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.

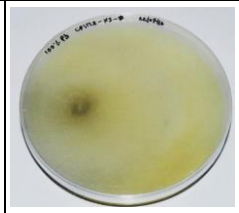
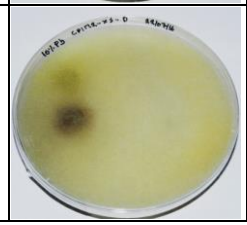
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 14 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente a metal **PLOMO (Pb)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	22	41	53	60	65			La colonia tiene un desarrollo muy rápido con respecto al tiempo.
100%	28	60	60	60	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
50%	22	59	59	60	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
10%	16	35	46	60	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.

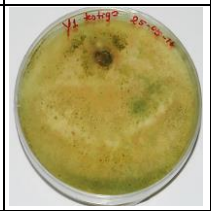
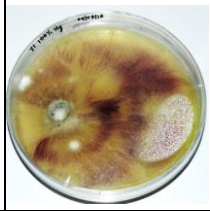
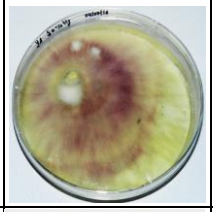
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 15 Valoración de la capacidad tolerante de la colonia **CP1M2-XS-D** frente al metal **PLOMO (Pb)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	39	42	60	60	65			La colonia tiene un desarrollo muy rápido con respecto al tiempo.
100%	32	38	56	58	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
50%	39	41	55	59	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.
10%	28	32	57	60	65	0.0		La colonia se desarrolla rápidamente y de forma progresiva, similar al testigo referencial.

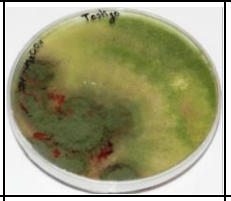
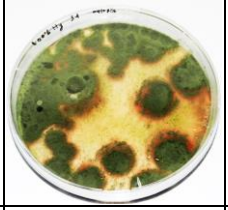
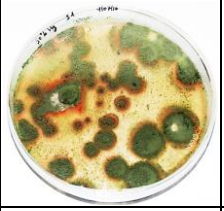
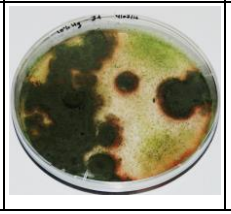
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora

Tabla 16 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **Y1** frente al metal **MERCURIO (Hg)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	10	25	35	45	65			La cepa de hongo tiene un crecimiento radial uniforme.
100%	6	13	20	31	65	0.0		La cepa de hongo crece al contacto con el metal, la coloración de la colonia cambia, pero el crecimiento radial es uniforme.
50%	8	14	20	31	65	0.0		La cepa de hongo crece al contacto con el metal, la coloración de la colonia cambia, pero el crecimiento radial es uniforme.
10%	8	14	19	33	65	0.0		La cepa de hongo crece al contacto con el metal, la coloración de la colonia cambia, pero el crecimiento radial es uniforme.

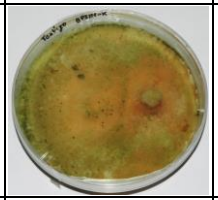
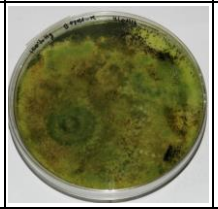
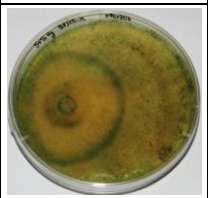
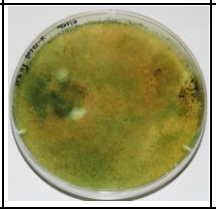
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 17 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **J1** frente a metal **MERCURIO** (Hg)

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	20	45	58	65	65			La colonia tiene un desarrollo rápido y uniforme.
100%	15	36	48	53	65	0.0		La colonia tiene un desarrollo rápido, tolera la presencia del metal, aunque el desarrollo es diferente con respecto al testigo.
50%	17	45	53	58	65	0.0		La colonia tiene un desarrollo rápido, tolera la presencia del metal, aunque el desarrollo es diferente con respecto al testigo.
10%	14	39	50	56	65	0.0		La colonia tiene un desarrollo rápido, tolera la presencia del metal, aunque el desarrollo es diferente con respecto al testigo.

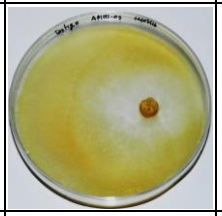
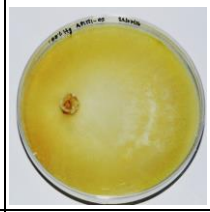
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 18 Valoración de la capacidad tolerante de la cepa **BP3M1-K** frente al metal **MERCURIO (Hg)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% inhibición	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	22	41	53	60	65			La colonia tiene un desarrollo rápido y uniforme.
100%	23	44	54	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, y la colonia se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo.
50%	24	60	60	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, y la colonia se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo.
10%	24	45	60	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, y la colonia se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo.

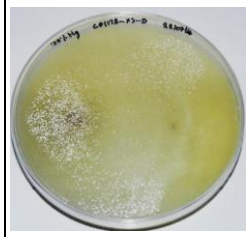
Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 19 Valoración de la capacidad tolerante de cepa AP1M1-05 frente al metal MERCURIO (Hg)

CONCENTRACION	48 horas/mm	72 horas/mm	96 horas/mm	120 horas/mm	146 horas/mm	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	26	36	58	60	65			La colonia tiene un crecimiento rápido y muy invasivo.
100%	41	54	60	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, la colonia crece rápidamente.
50%	30	38	59	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, la colonia crece rápidamente.
10%	29	38	59	60	65	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, la colonia crece rápidamente.

Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

Tabla 20 Valoración de la capacidad tolerante de la colonia **CP1M2-XS-D** frente al metal **MERCURIO (Hg)**

CONCENTRACION	48 horas (mm)	72 horas (mm)	96 horas (mm)	120 horas (mm)	146 horas (mm)	% INHIBICIÓN	FOTO	OBSERVACIONES
TESTIGO	39	42	60	60	60			La colonia se desarrolla rápidamente y cubre todo el terreno de cultivo.
100%	28	32	42	56	60	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo referencial.
50%	35	40	41	57	60	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo referencial.
10%	32	39	60	60	60	0.0		La cepa tolera la presencia del metal, se desarrolla rápidamente de forma similar al testigo referencial.

Resultado.- Los porcentajes de inhibición se reportan como (0,0) en las 3 concentraciones. ***Fuente:*** La Autora.

En base a los resultados, se seleccionaron 3 cepas codificadas como: Y1; J1 y BP3M1-K estas cepas, pertenecen a los géneros: Y1 (*Trichoderma* sp) J1 (*Penicilium* sp) BP3M1-K (*Trichoderma* sp). En el gráfico de barras (Figura 5) se evidencia el desarrollo de las cepas fúngicas en las 3 soluciones de (Pb, Cr, Hg).

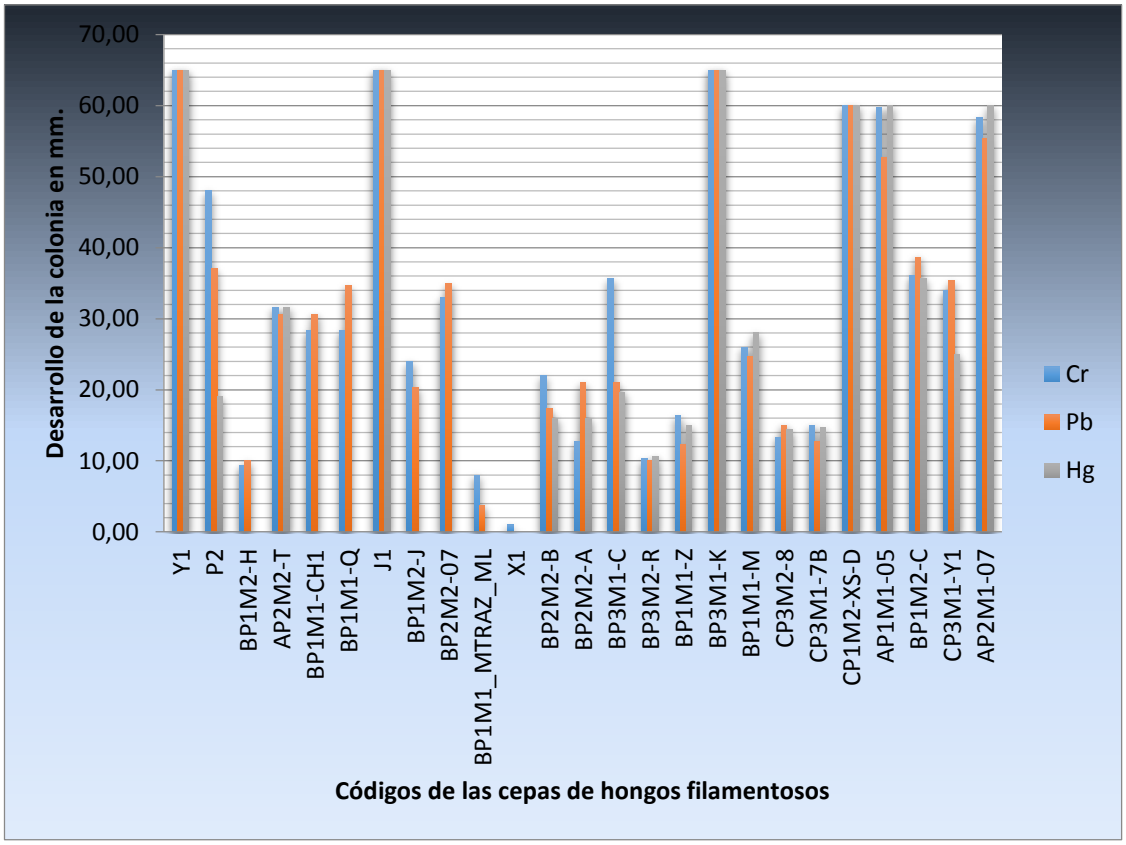


Figura 1 Gráfico de barras del porcentaje de tolerancia de las cepas frente a los metales (Pb, Cr y Hg)

Fuente: La Autora

5.3 Capacidad de Biosorción

El cambio de color es un indicador de biosorción, en la (Figura 2) se observa dos matraces con soluciones de cromo, (A la izquierda el testigo referencial, y a la derecha la solución con inóculos funginos).

Figura 2 Biosorción de metal Cromo

Fuente: La Autora

En el análisis estadístico, se obtienen los siguientes resultados:

Muestra	**N**	**Desv.Est**.	**IC**
Concentración Inicial	18	68.1564	(48.3664, 109.705)
Concentración Final	18	33.4940	(23.6201, 54.251)

Nivel de confianza individual = 97.5%

Según el nivel de confianza que se obtiene, nos indica que el análisis estadístico es correcto.

H0= Las concentraciones inicial y final de las soluciones de cromo, plomo y mercurio son iguales, luego de un proceso de biosorción con cepas de hongos filamentosos.

H1= Las concentraciones inicial y final de las soluciones de cromo, plomo y mercurio son diferentes, luego de un proceso de biosorción con cepas de hongos filamentosos.

Método	de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	6.35	**0.012**
Levene	5.65	**0.023**

De acuerdo a los resultados, los valores de **0.012 y 0.023,** son inferiores a 0,05 lo que nos indica que existe estadísticamente diferencia significativa entre los grupos de datos, consecuentemente, se acepta la Hipótesis 1.

En la Figura 3 se muestra la concentración inicial y final de las soluciones de plomo, cromo y mercurio.

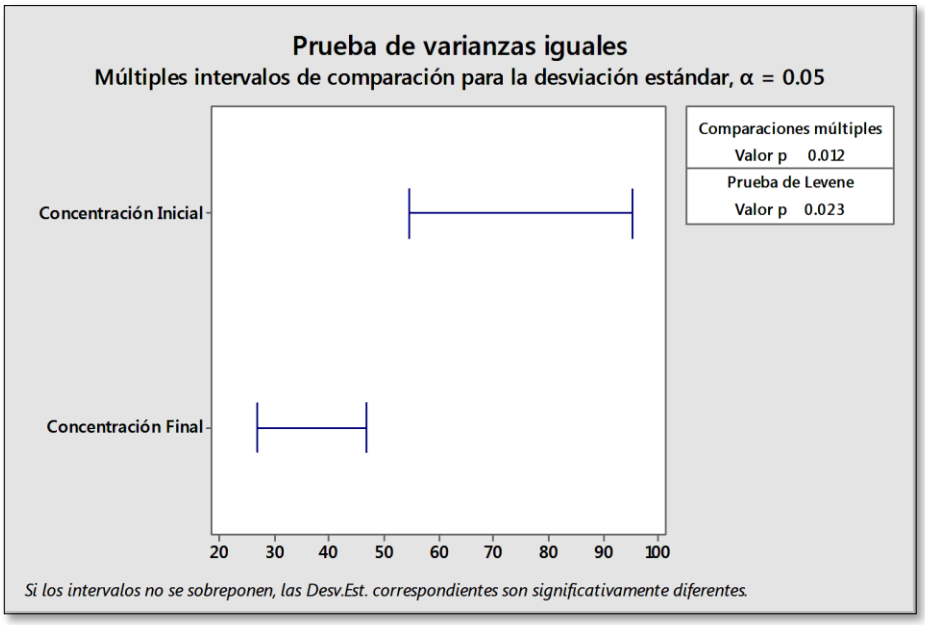


Figura 3 Intervalos de confianza de las concentraciones inicial y final.

Fuente: La Autora

En la Tabla 20 se muestran los valores de las concentraciones inicial y final de plomo, cromo y mercurio.

Tabla 21 Resultados de las concentraciones de cromo, plomo y mercurio total.

CODICO DE CEPA	Concentración inicial (Cr)	Concentración final (Cr)	Concentración inicial (Pb)	Concentración final (Pb)	Concentración inicial (Hg)	Concentración final (Hg)
Y1	168.41	138.95	257.15	113.12	109.5	79
	155.92	77.75	123.23	34.23	38.25	27
J1	168.41	103.73	257.15	119.2	109.5	76
	155.92	66.68	123.23	36	38.25	26
BP3M1-K	168.41	113.95	257.15	121	109.5	42
	155.92	70.54	123.23	32	38.25	19

Nota: El código de las cepas fúngicas se detallan en el ANEXO 1. ***Fuente:*** La Autora

En la Figura 4 se puede ver, la diferencia que existe entre las concentraciones inicial (testigo referencial) y las concentraciones finales del metal cromo. Se evidencia que la cepa J1 (*Penicilium* sp.) tiene la mayor capacidad de biosorber cromo.

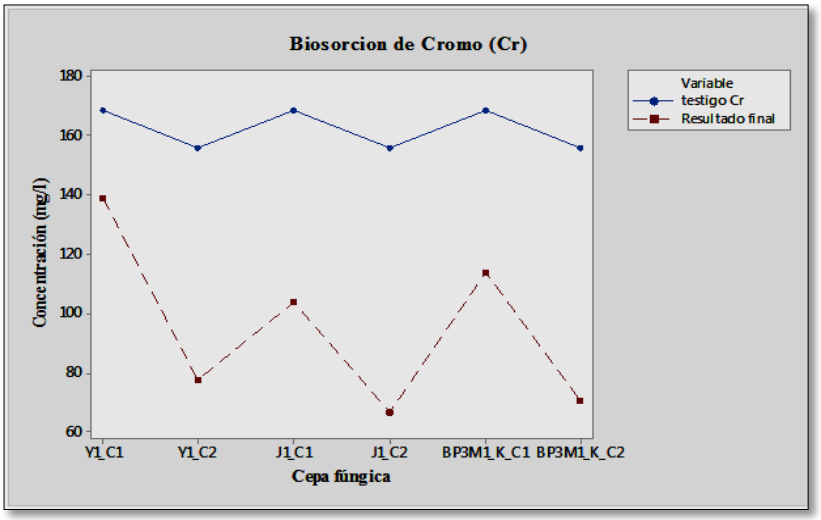


Figura 4 Biosorción de cromo total en 2 concentraciones, 250 y 500 mg/l

Fuente: La Autora

Para el caso del plomo (Pb) las 3 cepas se comportan de manera similar en cuanto a su capacidad biosorbente. Estadísticamente, la diferencia radica en la capacidad de las cepas para biosorber plomo (Pb) según las concentraciones que se reportan del análisis químico analítico (Ver tabla 20)

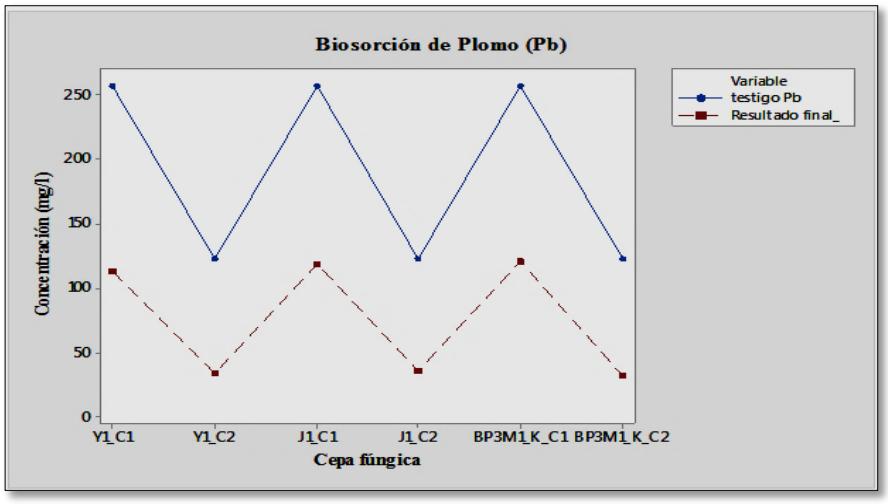


Figura 5 Biosorción de plomo en 2 concentraciones, 250 y 500 mg/l

Fuente: La Autora

Para el caso del mercurio (Hg) la cepa BP3M1-K (*Trichoderma* sp) presenta una gran capacidad biosorbente, en comparación con las dos cepas en análisis. Estadísticamente, los resultados son altamente significativos, demostrándose la diferencia entre las concentraciones inicial y final. Estos resultados nos hacen suponer que esta diferencia se debe a la capacidad biosorbente de las cepas. Las cepas J1 y Y1 estadísticamente, son diferentes y los grupos de datos significativos.

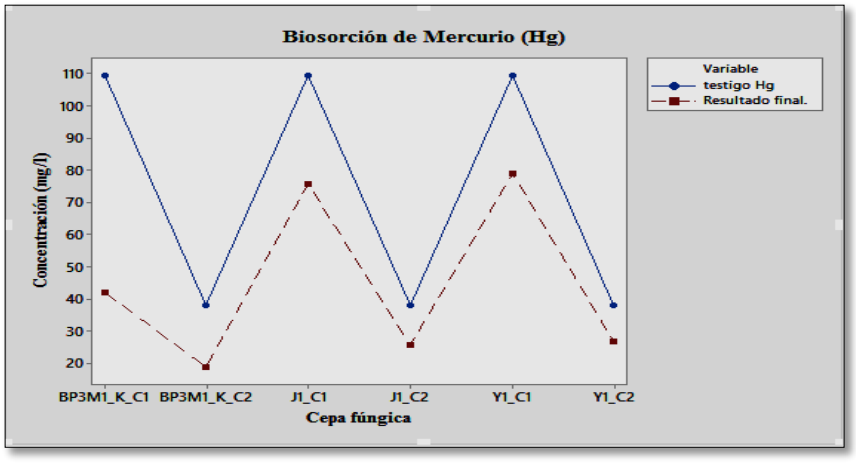


Figura 6 Biosorción de Mercurio en 2 concentraciones, 250 y 100 mg/l

Fuente: La Autora

5.4 DISCUCIÓN

Los hongos de los géneros (*Penicilium* sp. *Trichoderma* sp.) reporta la literatura especializada como excelentes biosorbentes de metales pesados. (Gutiérrez, *et al.*, 2010) (Rasool, 2014) (Castellón, Negrete, & Cardenas, 2014). Lo que se logró corroborar en el presente estudio, las concentraciones propuestas presentadas, están por encima de los parámetros establecidos en la normativa ambiental vigente, por lo que es posible aplicar este procedimiento en la biosorción de metales pesados a campo abierto.

6. CONCLUSIONES

- Se valoró la capacidad de biosorción de hongos filamentosos Y1 (*Trichoderma* sp) J1 (*Penicilium* sp) BP3M1-K (*Trichoderma* sp) nativos del Bosque Protector Aguarongo frente a los metales Pb, Cr y Hg a diferentes concentraciones, pudiéndose establecer parámetros que optimizarán procesos de biosorción de metales pesados.
- Las variables que intervienen en el proceso de biosorción de Pb, Cr y Hg son un pH 5.0, temperatura de 25°C con un periodo de retención de 7 días.
- Se valoraron 26 cepas de hongos filamentosos, y se demostró su capacidad de tolerancia de estas frente a los metales Pb, Cr y Hg
- El índice de biosorción mayor es de 89,24mg/l para el caso del cromo (Cr) con la cepa J1 (*Penicilium* sp).
- En el caso del plomo (Pb) las 3 cepas en análisis se comportan de manera similar en cuanto a la capacidad de biosorción a diferentes concentraciones. El índice de biosorción mayor es de 89 mg/l con la cepa Y1 (*Trichoderma* sp).
- Con el mercurio (Hg) y la cepa BP3M1-K (*Trichoderma* sp) se logra retener 67,5mg/l.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda la aplicación de los parámetros y conocimientos adquiridos en este trabajo experimental en investigaciones a campo abierto.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, I., Moctezuma, M., Cárdenas, J., & Gutiérrez, C. (2007). Bioadsorción de cadmio (II) en solución acuosa por biomasas fúngicas. *Información tecnológica, 18(1)*, 09-14.

Ahmad, I., Ansari, M., & Aqil, F. (2006). Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. using single and multi-metal solution. . *Indian journal of experimental biology, 44(1)*, 73.

Ainsworth, G., & Bisby, G. (1995). Dictionary of the F ungy 8th edition . *Common Wealth Mycological Institute Surrey, Kew*, 445.

Alloway, B. J. (2013). Heavy metals in soils, trace metals and metaloids in soils and their bioavailability (3ra ed.). *Reading, UK: Springer.*

Ames de Icochea, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. *International Potato Center*.

Anonymous. (2004). Bioremediation of Arsenic, Chromium, Lead and mercury. *United Estates Evironment Proteccion Agency, Office of solid waste and emergy response technology innovation office Washinton DC.*

ARTSDR, (. f. (1993). Toxicological profile for lead. U.S. . *Department of Health and Human Services. Atlanta.*

Barrera, L. (2015). Producción del documental de divulgación científica del Bosque Aguarongo.

Basso, M., Cerrella, E., & Cukierman, A. (2002). Empleo de algas marinas para la biosorción de metales pesados de aguas contaminadas. . *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 69-74. Argentina. .

Battarbee, R., Anderson, N., Appleby, P., Flower, R., Fritz, S., Haworth, E., . . . Stevenson, A. (1988). Lake Acidification in The United Kingdom. *ENSIS, London*.

Bell, A., & Wheeler, M. (1986). Biosynthesis and functions of fungal melanins. *A. Rev. Phytopathol (24)*, 411-451.

Blake, L., & Goulding, K. (2002). Effects of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal contents in soils and vegetation of seminatural

ecosystems at Rothamsted experimental station, UK. *Plant and Soil, 240(2)*, 235-251.

Borst, G., & Pauwels, F. (1981). Ion transport in yeast. *Biochim Biophys Acta 650(2-3)*, 88-127.

Boussen, S., Soubrand, M., Bril, H., Ouerfelli, K., & Abdeljaoud, S. (2013). Transfer of lead, zinc and cadmium from mine tailings to wheat (Triticum aestivum) in carbonated mediterranean (Northern Tunisia) soils. *Geoderma, 192*, 227 236.

Bowman, S., & Free, S. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall . *Bioessays 28(8)*, 799-808.

Burford, E., Fomina, M., & Gadd, G. (2003). Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals. . *Miner Mag 67(6)*, 1127-1155.

Calder, L. M. (1988). Chromium contamination of groundwater. En J. Nriagu, & E. Niwboer, *Chromium in the Nature and Human Environments* (págs. 215-229). New York: John Wiley & Sons.

Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana . *REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA-MEXICO-, 42(3)*, 131-143.

Cárdenas, J., & Acosta, I. (2011). Remoción de cromo hexavalente por el hongo Paecilomyces sp. aislado del medio ambiente. *Información tecnológica, 22(1)*, , 9-16.

Castellón, J., Negrete, J., & Cardenas, I. (2014). Remoción de plomo, cadmio y mercurio en un efluente minero por medio de biomasa de hongos Penicillium sp.

Cervantes, C., Campos, J., Devars, S., Gutiérrez, F., Loza, H., Torres, J., & Moreno, R. (2001). Interactions of chromium with micro-organisms and plants. *FEMS Microbiol Rev 25(3)*, 335-347.

Chávez, M., Cano, R., Mendoza, O., Amézquita, L., Caracheo, A., Obregón, H., . . . Gutiérrez, C. (1993). Proteínas inducibles por cobre en cepas de Mucor rouxii tolerantes y sensibles al metal.

Cisneros, p. (2008). El dialogo minero en el Ecuador- ¿ Señales de una nueva relacion entre comunidades, empresas extractivas y estado?

Clemente, R., Escobar, A., & Pilar, B. (2006). Heavy metals fractionation and organic matter mineralisation in contaminated calcareous soil amended with organic material. . *Bioresource Technology, 97(15)*, , 1894-1901.

Covarrubias, S., García, J., & Peñaa, J. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.

Ferguson, C., Peterson, M., & Jeffers, T. (1989). Removal of metal contaminants from water using biomass immobilized in polysulfone beads. En J. Scheiner,

F. Doyle, & S. Kawatra, *Biotechnology in Minerals and Metal Processing* (págs. 193-199). U.S.A: Mining Engineers, Littleton, CO.

Fernandez, R., Sierra, J., Villadóniga, M., & Millán, R. (2010). Comportamiento del Mercurio en el sistema suelo-planta. *Informe Técnicos CIEMAT* .

Gadd, G. (1988). Accumulation of metals by microorganisms and algae. En H. Rehm, *biotechnology, Vol. 6b, Special microbian Processes* (págs. 401-433). Weinheim: VCH V.

Gadd, G. (1993). Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytol 124(1)*, 25-60.

Gadd, G., & Rome, L. (1988). Biosorption of copper by fungal melanin. . *Appl. Microbial. Biotechnol (29)*, 610-617.

Gadd, G., & White, C. (1989). Heavy metal and radionuclide accumulation and yeasts. En R. Poole, & G. Gadd, *Metal-Microbe Interactions* (págs. 19-38). IRL Press, Oxford. .

Galun, M., Galun, E., Siegel, B., Keller, P., Lehr, H., & Sieguel, S. (1987). Removal of metal ions from aqueous solutions by Penicillium biomass: Kinetic and untake parameters. *Water Air Soil Pollut (33)*, 359-371.

Garbarino, J., Hayes, H., Roth, D., Antweider, R., Brinton, T., & Taylor, H. (1995). Contaminants in the Mississippi River, U. S. *Geological*.

Gustin, M., Lindberg, S., & Weisberg, P. (2008). An update on the natural sources and sinks of atmospheric mercury. *Geochem. 23*, 482-493.

Gutiérrez, J., Saldaña, Á., Alonso, A., Aguilar, F., López, G., Fernández, F., & Wrobel, K. (2010). Mecanismos de interacción con cromo y aplicaciones biotecnológicas en hongos. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*.

Gutiérrez, M., González, L., Sánchez, E., & Mellado, D. (2008). Biosorcion de Pb2+ por biomasa de Saccharomyces cerevisiae. *Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria e Ingenierías Ambientales.* .

Halliwell, D., Turoczy, N., & Stagnitti, F. (2000). Lead concentrations in Eucalyptus sp. In a small coastal town. *Bull Environ Contam Toxicol 65*, 583-590.

Holan, Z., & Volesky, B. (1995). Accumulation of cadmium, lead and nickel by fungal and wood biosorbents. *Appl. Biochem. Biotechnol. (53)*, 133-146.

Huang, C., Huang, P., & Morehart, A. (1990). The removal of Cu (II) from dilute aqueous solutions by Sacharamyces cerevisiae. Wat.Res (24).

Hutton, M., & Simon, C. (1986). The Quantities of Cadmium, Lead, Mercury and Arsenic Entering the U.K. *Environment from Human Activities. Sci. Total Environ. 57*, 129-150.

INEC. (2012). *Instituto Nacional De Ecología Y Cambio Climático.* México.

Kabata-Pendias, A., & Mukherjee, A. B. (2007). Trace elements from soil to human. *Berlin: Springer*.

Kiff, R., & Little, D. (1986). Biosorption of heavy metals by immobilized fungal biomass. En H. Eccles, & S. Hunt, *Immobilization of Ions by Biosorption.* (págs. 71-80). Ellis Horwood, Chichester.

Kuyucak, N., & Volesky, B. (1989). The mechanism of gold biosorption . *Biorecovery (1)*, 219-235.

Lacerda, L., & Salomons, W. (1998). Mercury from gold and silver mining: A chemical time bomb? Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg.

Lenntech. (2004). Water Treatment and Air Purification. Water Treatment, Published by Lenntech, Rotterdamseweg, Netherlands.

Llobet, J., Granero, S., Schuhmacher, M., Corbella, J., & Domingo, J. (1998). Biological monitoring of environmental pollution and human exposure to metals in Tarragona, Spain. IV. Estimation of the dietary intake. . *Trace Elem Electroly. 15 (3).* , 136- 141.

Losi, M., Amrhein, C., & Frankenberger, W. (1994). Environmental biochemistry of chromium . *Rev Environ Contam Toxicol 136*, 91-131.

Martino, E., Turnau, K., Girlanda, M., Bonfate, P., & Perroto, S. (2000). Ericoid mycorrhizal fungi from heavy metal polluted soils: their identification and growth in the presence of zinc ions. *Mycol. Res (84)*, 338-344.

McGrath, S., & Smith, S. (1990). Chromium and nickel . En B. Alloway, *Heavy Metals in Soils.* (págs. 125-150.). New-York: Wiley.

Morley, G., & Gadd, G. (1995). Sorption of toxic metals by fungi and clay minerals . *Mycol. Res (99)*, 1429-1438.

Mowll, J., & Gadd, G. (1984). Cadmium uptake by Aureobasidium pullulans. *J. Gen. Miicrobioal (130)*, 279-284.

Nicholson, F., Smith, S., Alloway, B., Carlton, C., & Chambers, B. (2003). An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. . *Science of the Total Environment, 311(1-3)*, 205-219.

Nriagu, J., & Pacyna, J. (1988). Quantitative Assessment of Worldwide Contamination of Air, Water and Soil by Trace Metals. *Nature, 333*, 134-139.

Pacyna, E., Pacyna, J., Sundseth, K., Munthe, J., Kindbom, K., Steenhuisen, F., . . . Maxon, P. (2010). Global emission of mercury to the atmosphere from antrophogenic sources in 2005 and projections to 2020 . *Amospheric Environment (4)*, 2487-2499.

Palmer, C., & Wittbrodt, P. (1991). Processes affecting the remediation of chromium-contaminated sites. *Environ Health Perspect 92*, 25-40.

Parkinson, D., & Coleman, D. (1991). Microbial Communities, activity and biomass. *Agric Ecosyst Environ (34)*, 3-33.

Perry, R., & Green, W. (2001). "Manual de Ingeniero Quimico" Volumen I, 7ma Edición. Madrid, España: mC Graw Hill.

Rasool, S. (2014). Toxic Metal Effect on Filamentous Fungi Isolated From the Contaminated Soil of Multan and Gujranwala.

Reyes, E., Cerino, C., & Suárez, M. (2006). Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ingenierías IX (31)*, 59-64.

Rivas, B., Gutiérrez, S., & Merino, F. (2004). Biorremoción de metales pesados en solución por Pseudomonas fluorescens M1A–4S aisladas de ambientes mineros. En S. S. Tecnología, *Asociación Chotana de Ciencias.* Perú.

Rodríguez, I., González, J., & Juárez, V. (2012). El uso de diferentes biomasas para la eliminación de metales pesados en sitios contaminados. *Ide@ s CONCYTEG, 7(85)*, 911-922.

Rubio, C., Gutiérrez, A., Martín-Izquierdo, R., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de toxicología, 21(2-3)*, 72-80.

Sakaguchi, T., & Nakajima, A. (1987). Accumulation of uranium by biopigments. *J. Chem. Technol. Biotechnol (40)*, 133-141.

Salomons, W. (1995). Environmental impact of metals derived from mining activities: Process; prediction, prevention. *Journal of Geochemical Exploration (52)*, 5-23. Amsterdam.

Sancho, J., Verdeja, L., & Ballester, A. (2001). "Metalurgia Extractiva" Volumen II, 5ta, Edición. España: Síntesis.

Senesi, N., Sposito, G., & Martin, J. (1987). Copper (II) and iron (III) complexation by humic acid-like polymers (melanins) from soil fungi. *Sci. Total Environ (62)*, 241-252.

Streets, D., Zhang, Q., & Wu, Y. (2009). Projections of global mercury emissions in 2050. . *Environ. Sci. Technol. 43* , 2983-2988.

Suárez, C., Fernández, R., Valero, N., Gámez, R., & Páez, A. (2008). Antagonismo in vitro de Trichoderma harzianum Rifai sobre Fusarium solani (Mart.) Sacc. Asociado a la marchitez en maracuyá. . *Revista Colombiana de Biotecnología 10(3)*, 35-43.

TULSMA. (2014). NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y CALIDAD DE EFLUENTES: RECURSO AGUA . *LIBRO VI, ANEXO 1*.

USEPA. (2014). Agencia de Proteccion Ambiental de los Estados Unidos .

Van Wyk, C. S. (2011). Removal of heavy metals from metal-containing effluent by yeast biomass . *African Journal of Biotechnology, 10(55)*, 11557-11561.

Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals by biosorption. En B. Volesky, *Biosorption of Heavy Metals* (págs. 7-44). FL: CRC Press. Boca Raton.

Volesky, B. (2004). Biosorption of heavy metals. Florida.: CRC Press, Boca Raton.

Volke-Sepúlveda, T., Velasco-Trejo, J., & De la Rosa-Pérez, D. (2005). Suelos contaminados por metales pesados y metaloides. México: INE-Semarnat.

Ward, N. (1995). Environmental analytical chemistry. In trace elements. (eds) Fifield FW and Haines p. *Acadmic and professional, UK*.

Wittmers, L., & Aufderheide, A. (1988). Lead in bone. Distribution of lead in the human skeleton. *Arch Environ Health 43*, 381- 391.

Wong, T., & Trevors, J. (1988). Chromium toxicity to algae and bacteria. En J. Nriagu, & E. Nieboer, *Chromium in the Natural and Human Environments* (págs. 305-315). New York: Wiley.

Wright, J. (2003). *Environmental Chemistry.* Psychology Press.

Zeng, F., Ali, S., Zhang, H., Ouyang, Y., Qiu, B., Wu, F., & Zhang, G. (2011). The influence of pH and organic matter content in paddy soil on heavy metal availability and their uptake by rice plants. *Environmental Pollution, 159(1),* 84-91.

8. APENDICE/ANEXOS

ANEXO 1 Glosario de Términos

CODIGO DE CEPAS	GENERO
Y1	*Trichoderma* sp.
P2	*Aspergillus* sp.
BP1M2-H	*Penicilium* sp.
AP2M2-T	*Fusarium* sp.
BP1M1-CH1	*Penicilium* sp.
BP1M1-Q	*Aspergillus* sp.
J1	*Penicilium* sp.
BP1M2-J	*Aspergillus* sp.
BP2M2-07	*ENR*
BP1M1_MTRAZ_ML	*Trichoderma* sp

X1	*Penicilium* sp.
BP2M2-B	ENR.
BP2M2-A	*Penicilium* sp.
BP3M1-C	*Penicilium* sp.
BP3M2-R	*Penicilium* sp.
BP1M1-Z	*Penicilium* sp.
BP3M1-K	*Trichoderma* sp.
BP1M1-M	*Aspergillus* sp.
CP3M2-8	*Penicilium* sp.
CP3M1-7B	*Penicilium* sp.
CP1M2-XS-D	ENR
AP1M1-05	*Trichoderma* sp.
BP1M2-C	*Aspergillus* sp.
CP3M1-Y1	*Penicilium* sp.
AP2M1-07	*Trichoderma* sp.

Nota: La cepas reportadas como ENR se entiende como estructura no reproductiva caracterizados en la primera parte del proyecto y constan en el cepario de la Universidad Politécnica Salesiana.