

# Desarrollo de microeconomías regionales en la producción de aceites esenciales cosechados en suelos mineros - ATN/RF-16110-RG

## Producto 7: Informe de Banco de Germoplasma

Lucía Fernández  
Anabel Sarán  
Luciano Merini

2021



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un programa de cooperación administrado por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), pero con su propia membresía, estructura de gobernabilidad y activos. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo, FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por la Lic. Lucia Fernandez, la Dra. Anabel Saran, y el Dr. Luciano Merini.

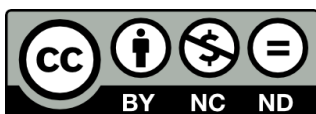
Copyright © 2021 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)





## Resumen

Las plantas ideales para remediar suelos contaminados con metales deben ser cultivos de alta producción de biomasa y que puedan tolerar y acumular los contaminantes de interés (Ebbs y Kochian, 1997). Ciertas especies vegetales han desarrollado mecanismos para solubilizar los metales del suelo. Las raíces de estas plantas pueden secretar sustancias movilizadoras de metales en la rizósfera llamadas fitoquelatinas (PC) o metalotioneínas (MT) (Puschenreiter *et al.*, 2017). A su vez los exudados de las raíces de estas especies pueden reducir el pH del suelo de la rizósfera generalmente en una o dos unidades sobre el pH del suelo a granel. Un pH más bajo del suelo aumenta la solubilización de los elementos (Thangavel y Subbhuraam, 2004). Los iones H<sup>+</sup> pueden también desplazar los cationes metálicos adsorbidos a las partículas del suelo (Alford *et al.*, 2010). En particular el cultivo de especies vegetales aromáticas no comestibles se ha propuesto como una opción remunerativa y viable que evita la entrada de estos elementos en la cadena alimentaria (Lal *et al.*, 2008a). Las características que hacen que estos cultivos aromáticos sean útiles para la fitorremediación incluyen, su crecimiento perenne con múltiples cosechas, tasa de crecimiento rápido con alta capacidad de producción de biomasa, propagación fácil y rápida, sistema de raíces profusas, fácil de cosechar, tolerante a las condiciones locales de estrés (variabilidad del pH, metales, sequía y temperatura), alta capacidad de estabilización de oligoelementos y no son comestibles para el ganado (Pandey *et al.*, 2012). Otra ventaja de las hierbas aromáticas es su capacidad de iniciar la sucesión ecológica (Verma *et al.*, 2014), la producción de aceites esenciales de alto valor agregado, paisajes estéticamente agradables, generando también hábitat de vida silvestre a corto plazo (Pandey, 2012). Los beneficios van desde ecológicos hasta socioeconómicos, cuando se usan plantas aromáticas en la revegetación de sitios contaminados (Pandey y Singh, 2015). El hecho de tener una cubierta vegetal en un área contaminada a su vez permite la estabilización del sustrato, el control de lixiviación y erosión, el control del movimiento de los metales por el viento, aumento de la fertilidad del suelo, secuestro de CO<sub>2</sub> (Pandey, 2013). El objetivo del presente trabajo es la construcción de un banco de germoplasma a partir de la bioprospección de especies aromáticas nativas, potencialmente capaces de tolerar altas concentraciones de metales pesados. Con el fin de evaluar posteriormente su tolerancia a metales pesados y la posibilidad para fito-estabilizar áreas contaminadas.

### Palabras Clave:

Metales pesados, plantas aromáticas tolerantes, banco de germoplasma.



## Información de Relevancia con una discusión técnica

Existe amplia bibliografía que menciona las características deseables que deben poseer las especies vegetales para ser usadas en técnicas de fitoremediación de suelos. Algunos autores tales como Ebbs & Kochian (1997); EPA (2000); Ali *et al.*, (2013), consideran importante que las plantas tengan buena producción de biomasa aérea y desarrollo radicular, que puedan tolerar, metabolizar y/o acumular los contaminantes de interés-en este caso metales pesados- que estén adaptadas a las condiciones ambientales y climáticas del ambiente a remediar, sean de fácil cultivo, manipulación y cosecha y poco o nada palatable para evitar inconvenientes asociados a la herbívora y fenómenos de bio-magnificación.

Las Brassicaceae o las Asteraceae son familias de especies muy conocidas por sus capacidades para tolerar o acumular metales (Cunningham *et al.*, 1995; Méndez *et al.*, 2008, Vargas Aragón, 2012) y presentan muchas de las características recientemente mencionadas, sin embargo la mayoría de sus ejemplares son especies exóticas para las zonas áridas de Argentina y además cultivables, lo que puede generar problemas de bio-mangificación.

Por otro lado, en Argentina, el cultivo y la producción de especies vegetales nativas es un interesante recurso para tratar ambientes degradados de zonas áridas y semi-áridas del país (Peter *et al.*, 2014; Peano, 2016). Se han logrado importantes avances en la rehabilitación y restauración de ambientes áridos empetroados *in situ* mediante el uso de especies vegetales nativas propias de esos sitios (Beider 2012, Pérez 2013; Ceccon & Pérez, 2016) sin embargo, existen escasos antecedentes en lo que respecta a la fitorremediación de suelos con metales y más aún si pretendemos que dichas tecnologías se realicen con especies nativas (Branzini, 2014; Salazar, 2017).

Obtener información completa sobre la composición de especies de un determinado sitio permite expresar mejor las relaciones interespecíficas y con el ambiente. Esta clase de estudios es sustancialmente útil para diseñar proyectos de tipo sustentables, aportando información precisa y valiosa sobre los componentes vegetales de un determinado lugar (Perelman *et al.*, 2005). En este contexto la bioprospección se define como la acción que involucra la búsqueda, clasificación e investigación de nuevas fuentes de compuestos químicos, genes, proteínas y otros productos que posean un valor económico actual o potencial y que se hallan presentes en los componentes de la diversidad biológica de un determinado lugar (Duarte Torres & Velho, 2009). Para este propósito es fundamental constituir bancos de germoplasma vegetal, los cuales se definen como un sitio específico donde es posible almacenar colecciones de material genético en forma de semillas, tejidos o células reproductoras de plantas. El objetivo de esta conservación *ex situ* está vinculado con la preservación la diversidad genética de la flora de un determinado hábitat o región ecológica (Gold *et al.*, 2004) siendo en este caso particular la flora de ambientes áridos con potencial para ser usadas en tareas de remediación/restauración de ambientes mineros. En general las semillas pueden permanecer almacenadas por tiempos prolongados, sin embargo, la permanencia y viabilidad dependerá en gran parte de la calidad inicial al momento en que fueron



colectadas (Gold et al., 2004) y del procesamiento y almacenamiento pos-colecta realizado en laboratorio.

## **OBJETIVOS**

El objetivo de este estudio fue realizar en primer lugar la bioprospección de especies vegetales en los sitios mineros y seleccionar las especies que sean potencialmente aptas como recurso fitorremediador y a partir de esta selección, confeccionar un banco de germoplasma para futuras investigaciones en el área de la remediación de suelos con metales. Estos objetivos se enmarcan dentro de las actividades propuestas para el año 2018 y 2019.

## **METODOLOGÍA**

### ***Bioprospeccion vegetal en sitios mineros abandonados***

El proceso de bioprospección se realizó teniendo en cuenta, además de los típicos criterios propuestos por bibliografía, 3 atributos vinculados al contexto “ambiente árido” y “valorización económica post minería” que son importantes para este trabajo, los cuales se detallan a continuación:

1. Especies típicas de ambientes áridos/semi-áridos: dado que la minería, sobre todo la minería metalífera se desarrolla en estas áreas, por lo tanto es fundamental buscar especies que tengan la capacidad innata de crecer y vivir en esta clase de ambientes y que no requieran (o en muy baja proporción) ningún tipo de intervención/mantenimiento para su implantación y posterior crecimiento.
2. Generalmente las especies mejor adaptadas a sus ambientes son las que denominamos especies nativas o autóctonas, en este caso de la zona fitogeográfica del Monte, las cuales han co-evolucionado con el ambiente logrando establecerse de forma natural, sin ningún tipo de intervención humana.
3. La valorización económica de los suelos alterados por la minería también forma parte de los planes de cierre minero, por lo tanto las especies deben ser preferentemente aromáticas, es decir poseer aceites esenciales/resinas o metabolitos secundarios factibles de ser empleados con algún fin biotecnológico. Esta característica creemos que es muy importante para el desarrollo de emprendimientos económicos basados en la cosecha de especies en suelos mineros, dado que se pretende dinamizar y potenciar las micro-economías de la zona una vez finalizada la explotación minera.

Para realizar los muestreos vegetales nos basamos en los principios establecidos por el método fitosociológico descrito por Braun-Blanquet (1979) sin embargo realizamos modificaciones



metodológicas acordes a los objetivos y tiempos pautados para esta investigación. La fitosociología, rama de la ecología vegetal, estudia las comunidades de plantas desde el punto de vista florístico, ecológico, dinámico, corológico e histórico.

Los sitios seleccionados fueron las instalaciones abandonadas (túneles y bocas de mina) de las Minas Ethel y Alejandro donde, en comparación a las zonas aledañas de las explotaciones, los suelos presentaban alteraciones en sus estructuras (escombros, suelo despajeado, desniveles).

Se realizó un muestreo por estratos para poder obtener una mejor descripción del componente vegetal, nos basamos principalmente en la observación ocular a campo para realizar inventarios florísticos lo más detallados posible y se estimó la cobertura usando la escala de Braun-Blanquet. Esta escala combina la Abundancia-Dominancia que está representada por el número de individuos presentes en un hábitat determinado y el aporte de biomasa de cada especie a la comunidad. Se compone de índices y números. Los índices inferiores registran la abundancia y se representan por los signos “+” (un solo individuo, cobertura despreciable) y “r” (más individuos que los representados por el signo + pero aun así la cobertura es muy baja), mientras que los números van gradualmente del 1 al 5 y tienen en cuenta la cobertura-dominancia, siendo el número 1 el que representa numerosos individuos/especies, pero muy dispersos y la cobertura del área es menor al 5% y el número 5 representa cualquier número de individuos que cubran > 75% del área (Abraham, 2005; Alcaraz Ariza, 2013).

En el laboratorio se analizó la información botánica colectada y se la comparó con literatura especializada. A partir de estos datos se construyeron tablas resúmenes solo con aquellas especies cuyas características eran compatibles con los criterios de selección propuestos durante el proceso de bioprospección.

El muestreo fue realizado en la época estival (Marzo del 2018), dado que es el momento de fructificación de la mayoría de las especies, una etapa fenológica apta para las determinaciones taxonómicas y la recolección de propágulos para los posteriores ensayos de siembra y confección de banco de germoplasma. Los ejemplares fueron identificados taxonómicamente a través de claves sistemáticas de las floras regionales (Correa, 1999) y los nombres científicos se actualizaron según el catálogo de Plantas Vasculares del Cono Sur.

### ***Selección de especies vegetales, colecta de semillas y frutos***

Del total de las especies registradas durante la bioprospección en los sitios mineros se seleccionaron a: *Helianthus petiolaris*, *Grindelia chiloensis*, *Larrea divaricata* y *Azorella prolifera*, para dar inicio al estudio de sus interacciones con los metales. Estas especies son típicas de ambientes áridos/semiáridos y a simple vista eran las que presentaban mejor crecimiento en los suelos disturbados por la minería, además existen antecedentes bibliográficos que dan cuenta de sus aplicaciones en la restauración de ecosistemas, sin embargo los usos como recursos fitorremediadores y tolerantes a metales esta poco estudiado.

Las colectas y disposición final de los propágulos se realizaron en base a las recomendaciones propuestas por Gold y colaboradores, (2004); Rao y colaboradores (2007) y Elechosa (2009). Se



llevaron a cabo luego de la floración de cada especie vegetal (**Figura 2 y 3**). Es importante tener en cuenta que las especies silvestres poseen diferentes momentos de floración, algunas ocurren de forma continua durante la época primavera-otoño con varios picos de abundancia mientras que otras especies florecen en dos momentos del año que suele ser a finales de primavera-inicio de verano y finales de verano-inicio de otoño. Las semillas o frutos se colectaron cuando habían alcanzado la madurez óptima, momento en el que presentan mayor vigor, tolerancia a la desecación y longevidad. Para interpretar estas características se emplearon diferentes indicadores visuales tales como cambios de color y consistencia del fruto, color y dispersión de semillas, entre otros, los cuales varían según la especie.



**Figura 2.** Campaña realizada en Mina Alehandro, Mendoza, Argentina.



**Figura 3.** Campaña de *H. petiolaris*.

A

continuación, se mencionan los indicadores utilizados para cada planta:

1. En *L. divaricata* se observó el color y morfología del fruto (esquizocarpo), el cual posee forma esferoidal y se compone por 5 mericarpos hirsutos, cuyo color va cambiando conforme al estado de madurez, pasando de verde-grisáceo a marrón/rojizo. La separación de los folículos es otro de los signos de madurez. Al interior de cada folículo se encuentra una semilla de textura lisa y de color verde si es inmadura o marrón si está fisiológicamente madura.
2. En *G. chilensis* y *H. petiolaris*, se emplearon los mismos indicadores visuales que en la especie anterior, y se agregó el color de los capítulos florales, conforme va madurando cambian de verde a marrón. Los frutos son pequeños aquenios, glabros y en su estado de madurez presenta un color marrón pálido y se desprenden fácilmente del papus y del capítulo que los contiene. Por otro lado, en el caso de *Grindelia*, dado que es una especie muy resinosa, en estado maduro los aquenios deben poder separarse fácilmente entre sí.
3. En *A. prolifera*, el fruto es un esquizocarpo y al igual que las otras dos especies es seco y cuando está maduro se separan en dos mericarpos monospermos es decir con una sola semilla, quedando unidos al peciolo por el carpóforo. Son de textura lisa y de una coloración levemente marrón cuando están maduros.





Se evitaron los cortes de ramas para no dañar la parte basal de la planta, que es donde se encuentran las yemas de renuevo. Para ello fue necesario sacudir las ramas en el interior de una bolsa de papel, garantizando así solo la recolección de frutos madurados. No se colectaron semillas/frutos del suelo. En lo posible, para evitar una cosecha intensiva en un mismo individuo, se realizaron colectas de poca cantidad pero en varios ejemplares.

### ***Acondicionamiento del material pos-colecta***

Luego de la colecta a campo, se procedió a realizar la evaluación y limpieza física del material, tareas que son necesarias para el armado de un banco de germoplasma. Durante este proceso se evaluó (primero a ojo desnudo y luego con lupa) la incidencia de infecciones por insectos/hongos, así como también cualquier daño mecánico, luego con pincel se procedió a separar todo tipo de material inerte, desechos e impurezas. No fue necesario realizar secado previo para retirar exceso de humedad.

### ***Banco de germo-plasma de especies potencialmente remediadoras***

Luego del proceso de selección y limpieza del material colectado, se procedió al armado de un banco de germoplasma vegetal. Para ello:

1. Se verificó que el material colectado esté en condiciones de ser almacenado.
2. Se realizaron pruebas preliminares de germinación en papel (ensayo primeras pruebas de germinación).
3. Para el almacenamiento se introdujo el material en pequeñas bolsas de madera previamente rotuladas con un número de entrada, nombre de la especie, fecha de recolección, cantidad de material, nombre del colector y geo-localización.
4. Por último, se almacenaron en laboratorio en un recipiente con silica-gel.

### ***Viabilidad de las semillas, ensayos de germinación***

Es importante que las colecciones que conforman un banco de germoplasma sean periódicamente evaluadas. Una de las pruebas más recurrentes es analizar la viabilidad del material mediante pruebas de germinación *ex vitro* en cajas de Petri sobre papel absorbente en condiciones de esterilidad, humedad y temperatura controlada, según los requerimientos de cada especie (Rao *et al.*, 2007).

Antes de la desinfección del material y siembra en las cajas de Petri, las semillas de *G. chilensis* se lavaron con agua de la canilla según lo recomendado por Beider (2012), mientras que a las semillas de *A. prolifera*, se les realizó una estratificación en frío/húmedad a 4 °C durante 14 días, ya que la germinación de muchas apiáceas responde favorablemente a estos procesos (Acuña Rodríguez, 2013, Troncoso *et al.*, 2020). Los mericarpos de *L. divaricata*, según Barbour (1968) presentan inhibidores químicos en las cubiertas del fruto que limitan la germinación, por lo tanto, fueron lixiviados con agua destilada durante 3 horas para contribuir con la ruptura de dormición.



La desinfección los propágulos se esterilizaron superficialmente en inmersión y agitación orbital (170 r.p.m.) con solución de hipoclorito de sodio al 10% y Tween 80 al 0,01% durante 30 minutos. Se mantuvo una relación líquida:propágulos de al menos 10:1, luego se enjuagaron con tres alícuotas de 40 ml de agua destilada estéril y finalmente en flujo laminar se los sembró con pinza estéril en las cajas Petri de poliestireno transparente las cuales previamente contenían un disco de algodón y papel de filtro estéril de aproximadamente 5 mm de espesor humedecido con agua destilada estéril. El número de propágulos en cada caja de Petri se seleccionó siguiendo las recomendaciones de Roa y colaboradores (2007).

Las especies arbutivas como *G. chilensis* y *L. divaricata* requieren para germinar temperaturas entre 15 y 20 °C, por lo tanto las cajas de Petri se colocaron durante 7 días en estufa en oscuridad a temperatura de  $20 \pm 2$  °C y pasado ese tiempo se transfirieron a una cámara de germinación durante 5 semanas con un fotoperiodo de: 13 horas de luz a 20 °C y 11 horas de oscuridad a 15 °C para *G. chilensis* (Negrin y Zalba, 2008), 16 horas de luz a 26 °C y 8 horas de oscuridad a 17 °C para *L. divaricata* (Palacio *et al.*, 2008) mientras que para *A. prolifera* 12 horas de luz a 20 °C día y 12 horas de oscuridad a 10 °C (Acuña Rodríguez, 2013).

Se consideró como semilla germinada, la emergencia de la radícula embrionaria a través de las cubiertas seminales (Varela y Arana, 2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Bioprospección vegetal*

Se registraron en cada sitio minero solo las especies vegetales que mejor representaban los atributos deseados a los fines e intereses de esta investigación, lo que dio un total de 21 ejemplares (**tabla 1 y 2**).



**Tabla 1. Bioprospección de especies vegetales en Mina Ethel**

Especies vegetales	Familia	Abundancia/ dominancia	Hábito	Status
<i>Baccharis darwinii</i> Hook. & Arn.	Asteraceae	2	Subarbusto – Perenne	Nativa
<i>Grindelia chiloensis</i> (Cornel.) Cabrera	Asteraceae	1	Subarbusto – Perenne	Endémica
<i>Junellia seriphoides</i> (Gillies & Hook. ex Hook.) Moldenke	Verbenaceae	2	Arbusto – Perenne	Nativa
<i>Larrea divaricata</i> Cav.	Zygophyllaceae	2	Arbusto-Perenne	Nativa
<i>Lecanophora heterophylla</i> (Cav.) Krapov.	Malvaceae	+	Hierba-Perenne	Endémica
<i>Neosparton aphyllum</i> (Gillies & Hook. ex Hook.) Kuntze	Verbenaceae	2	Arbusto – Perenne	Endémica
<i>Pappostipa humilis</i> (Cav.) Romasch.	Poaceae	1	Hierba-Perenne	Endémica
<i>Senecio filaginiodes</i> DC. var. <i>Filaginoides</i>	Asteraceae	1	Arbusto-Perenne	Endémica
<i>Senecio subulatus</i> D. Don ex Hook. & Arn.	Asteraceae	1	Arbusto – Perenne	Endémica
<i>Sporobolus rigens</i> (Trin.) E. Desv var. <i>rigens</i> .	Poaceae	1	Arbusto-Perenne	Endémica
<i>Helianthus petiolaris</i> Nutt.	Asteraceae	2	Annual	Adventicia



**Tabla 2. Bioprospección de especies vegetales en Mina Alejandro**

Especies vegetales	Familia	Abundancia/ dominancia	Hábito	Status
<i>Acanthostyles buniifolius</i> (L.) R.M. King & H. Rob.	Asteraceae	3	Arbusto – Perenne	Nativa
<i>Denmoza rhodacantha</i> (Salm- Dyck) Britton & Rose	Cactaceae	1	Subarbusto – Perenne	Endémica
<i>Hyalis argétea</i> D. Don ex Hook. & Arn.	Asteraceae	+	Subarbusto – Perenne	Endémica
<i>Jarava ichu</i> Ruiz & Pav.	Poaceae	3	Hierba- Perenne	Nativa
<i>Larrea divaricata</i> Cav	Zygophyllaceae	2	Arbusto – Perenne	Nativa
<i>Azorella prolifera</i> (Cav.) G.M. Plunkett & A.N. Nicolas	Apiaceae	3	Subarbusto- Perenne	Nativa
<i>Pappostipa humilis</i> (Cav.) Romasch.	Poaceae	2	Hierba- Perenne	Endémica
<i>Prosopis flexuosa</i> DC. var. <i>Depressa</i>	Fabaceae	2	Arbusto – Perenne	Endémica
<i>Senecio filaginoides</i> DC. var. <i>Filaginoides</i>	Asteraceae	2	Arbusto – Perenne	Endémica
<i>Senecio subulatus</i> D. Don ex Hook. & Arn.	Asteraceae	2	Arbusto – Perenne	Endémica

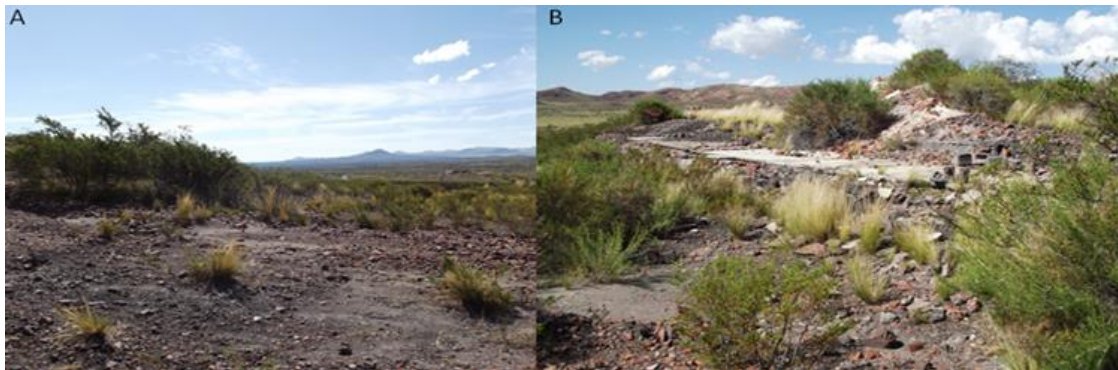
El total de los ejemplares, se distribuyen en 8 familias botánicas siendo las Asteraceae la más representativa dado que aproximadamente el 40% (9 ejemplares distribuidos en 6 especies diferentes) pertenecen a esta familia. Las Poaceae son la segunda familia con mayor representatividad con 4 ejemplares, todos de especies diferentes. Las restantes 6 familias se componen solamente por 1 o 2 especies.

Para entender el estado de conservación de las especies de un determinado ecosistema es necesario conocer el status de la vegetación (Godoy-Bürki 2015), en este caso el 60% de las especies censadas son endémicas (viven exclusivamente en un determinado lugar del mundo) y el 40% restantes son nativas o autóctonas es decir se encuentren en diferentes regiones, incluso separadas entre sí, siempre que se hayan establecido en esa región de forma natural. Cabe aclarar que en ambas zonas de muestreo si bien había especies exóticas, no fueron incluidas durante el proceso de bioprospección ya que no cumplían con los requisitos de selección propuestos para este trabajo.

De las especies reportadas, el 75% corresponden a hábitos de crecimiento arbustivo y sub-arbustivo y el 25% restante a herbáceas lo que genera en el paisaje una heterogeneidad horizontal



y vertical. En cuanto a la distribución espacial si bien para ambos sitios el porcentaje de suelo desnudo es de aproximadamente un 70%, se pudo observar que las especies se distribuyen en forma de parches (**Figura 1**). Con relación a los ciclos de vida, son todas perennes, es decir que perduran 3 años o más.



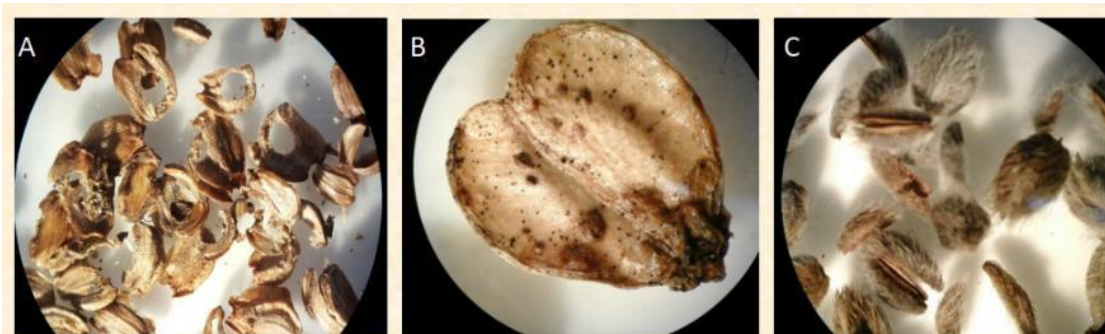
**Figura 1.** (A-B) Distribución espacial y horizontal de la vegetación censada en los sitios mineros.

La cobertura y abundancia en Mina Ethel, *Lecanophora heterophylla* fue la especie con menor cobertura, seguido por *Grindelia chiloensis*, *Pappostipa humilis*, *Senecio filaginioides*. var. *Filaginoides* y *Senecio subulatus*, cuyos índices fueron identificados en la escala con el nº 1, lo que representa una cobertura menor al 5%. La mayor cobertura se registró con el índice 2 (cobertura de entre 5-25%) y correspondió a las especies *Baccharis darwinii*, *Junellia seriphioides*, *Larrea divaricata* y *Neosparton aphyllum*.

En Mina Alejandro *Hyalis argétea* fue la especie con menor cobertura, seguido por *Denmoza rhodacantha* cuya cobertura representó menos del 5% de la superficie censada. Las especies: *Larrea divaricata*, *Pappostipa humilis*, *Prosopis flexuosa* var. *Depressa*, *Senecio filaginioides* var. *Filaginoides* y *Senecio subulatus* alcanzaron una cobertura de tipo 2. A diferencia del sitio anterior, en Mina Alejandro las especies *Acanthostyles buniifolius*, *Jarava ichu* y *Azorella prolifera* fueron las que mayores coberturas presentaron en dicha área ya que alcanzaron entre un 25 – 50% del área, lo que sería el equivalente al índice 3 en la escala de Braun-Blanquet.

#### **Acondicionamiento del material pos-colecta**

Como resultados de la limpieza y separación de material bajo lupa binocular (**Figura 4**), aproximadamente un 35% de los frutos de *L. divaricata* (cápsulas) fueron descartados dado que en su interior se encontraban vacíos y las cubiertas estaban dañadas por picaduras de insectos. Con relación a los aquenios de *G. chiloensis* el 40% del material estaba aglutinando, conformando una “masa resinosa” de difícil separación y además presentaban daños mecánicos, por lo que fueron descartados, mientras un 40% de los esquizocarpos de *A. prolifera* tenían máculas de color negro y daños mecánicos principalmente a la altura del carpóforo y también se descartaron.



**Figura 4.** (A) Aquenios dañados de *G. chilensis*. (B) Esquizocarpos de *A. prolifera*. (C) Cápsulas de *L. divaricata*.

#### ***Banco de germo-plasma de especies potencialmente remediadoras***

Los propágulos de las especies fueron colectados a lo largo de 22 campañas (**Tabla 3**) siendo la primera en zonas mineras abandonadas de la provincia de Mendoza y todas las restantes en diferentes sitios de la provincia de La Pampa, puntualmente en zonas típicas de la región fitogeográfica del Monte o de su transición ecotonal entre Espinal y Monte que es donde crecen de forma silvestre.



**Tabla 3. Banco de germoplasma**

Nº de acceso	Especie	Año y mes	Sitio	Cantidad de ejemplares
00012	<i>H. petiolaris</i>	2016-03	Mina Ethel GPS: 36°09'22"S 68°17'56"O	6
00015	<i>H. petiolaris</i>	2016-03	Santa Rosa GPS: 36°37'32"S 64°16'2.7"O	10
00004	<i>H. petiolaris</i>	2016-03	General Pico GPS: 35°40'37"S 63°45'69"O	4
00021	<i>A. prolifera</i>	2016-03	Mina Alejandro GPS: 3602' 32"(S),68 28' 05"(W)	7
00022	<i>G. chilensis</i>	2016-03	Mina Ethel GPS: 36°09'22"S 68°17'56"O	10
00023	<i>L. divaricata</i>	2017-03	INTA Anguil (lab suelo)	1
00024	<i>L. divaricata</i>	2017-04	1er Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	7
00025	<i>L. divaricate</i>	2017-04	El Durazno, sobre cantera GPS 36°44'14,66" (S) 65° 17' 26,9" (W)	15
00026	<i>L. divaricate</i>	2017-4	Monte GPS: 37°30'54,5" (S) 65°18'38 (W)	10
00027	<i>L. divaricate</i>	2017-12	Unanue S:37° 30' 03,0"/W: 64° 27' 37,6"	6
00028	<i>L. divaricata</i>	2017-12	Unanue S:37° 30' 03,0"/W: 64° 27' 37,6"	6
00029	<i>L. divaricata</i>	2017-1	Unanue S:37° 30' 03,0"/W: 64° 27' 37,6"	6
00030	<i>L. divaricata</i>	2018-1	Chacharramendi 37°20'24.3" (S) 65°37'25.3" (W)	>10
00031	<i>L. divaricata</i>	2018-1	Ruta 13 36°42'51.2"(S) 65°17'55.9" (W)	>10
00032	<i>L. divaricata</i>	2018-1	Chacharramendi 37°20'24.3" (S) 65°37'25.3" (W)	>10
00033	<i>L. divaricata</i>	2018-1	1er Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	>10
00034	<i>L. divaricata</i>	2018-1	2do Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	>10
00035	<i>L. divaricata</i>	2018-1	3er Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	>10
00036	<i>L. divaricata</i>	2018-1	Chacharramendi 37°20'24.3" (S) 65°37'25.3" (W)	>10
00037	<i>L. divaricata</i>	2018-2	1er Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	>10
00038	<i>L. divaricata</i>	2018-2	Chacharramendi 37°20'24.3" (S) 65°37'25.3" (W)	>10
00039	<i>L. divaricata</i>	2018-3	1er Ecotono (Ruta 14) GPS: 26° 42'20,4" (S) 65°08'41,1"(W)	>5

### **Viabilidad de las semillas, ensayos de germinación**

Los porcentajes de germinación obtenidos para las tres especies seleccionadas fueron inferiores al 15% (15% *G. chilensis*-sitio control, 13% *G. chilensis*-Mina Ethel, 10% *L. divaricata*, 0% *A. prolifera*).

En cuanto a los tiempos de emergencia de la radícula para *G. chilensis* (en ambas poblaciones) a los 3 días de realizado el ensayo se obtuvieron las primeras germinaciones (2% del total) a los 7 días germinó el 6%, y hacia el final del ensayo (día 15) se registró el mayor porcentaje de germinación (entre un 7% y 9%). En *L. divaricata*, las primeras germinaciones se obtuvieron a los dos días (2% del total) y a mitad del ensayo se alcanzó el 10% y ya no se registraron nuevas germinaciones.



Una vez finalizado el ensayo, se observaron bajo la lupa las semillas no germinadas. Las semillas de *A. prolifera* estaban en su totalidad blandas por lo que se asume que un proceso de putrefacción ocasionó la mortandad embrionaria. En cuanto a las semillas de *G. chilensis* se observó un alto grado de contaminación, por lo tanto, se considera que este fue el causante de la muerte de los embriones, mientras que la apertura de los frutos de *L. divaricata* un 40% estaban vacíos y los restantes contenían las semillas que en apariencia lucían viables, pero estaban sin germinar.

A pesar de la esterilización, se observó contaminación por hongos del género *Alternaria sp.* en *A. prolifera* y *G. chilensis* y por *Phoma sp.* y *Plasmodium sp.* en *L. divaricata* (**Figura 5**) y bacterias en *G. chilensis*. En las 3 especies, al tercer día de realizada la prueba el 10% del material ya estaba contaminado, al cabo de una semana el porcentaje ascendió a un 50% y hacia final del ensayo fue de un 90%.



**Figura 5.** (A) Aquenios dañados de *G. chilensis*. (B) Esquizocarpos de *A. prolifera*. (C) Cápsulas de *L. divaricata*.





## Conclusión

La flora que hemos censado durante el proceso de bioprospección representa un importante avance en la búsqueda de nuevas especies tolerantes a metales que no sean comestibles ni exóticas. Si bien aún desconocemos sus roles como potenciales recursos fito-remediadores de suelos mineros, el hecho de que se encuentren adaptadas a las severas condiciones ambientales típicas de las zonas áridas/semiáridas ya les confiere una ventaja por encima de otras especies.

Por otro lado, el estudio de estas plantas en sus interacciones con los metales representa un desafío desde lo metodológico, ya que en general no disponemos de información sobre cómo tratar las semillas, por lo que es necesario confeccionar protocolos de germinación y siembra que nos permita seguir avanzando en la investigación de estas especies.

Por último, la creación de un Banco de Germoplasma de flora nativa resulta vital no solo en las investigaciones para remediación de suelos sino fundamentalmente como acción preventiva que permita evitar pérdidas de biodiversidad, asegurando la conservación a largo plazo de estos ecosistemas.



## Referencias Bibliográficas

- Abraham, E. M. (2003). Evaluación de la degradación de las tierras en las zonas áridas. Proyecto LADA.Desertificación. Indicadores y puntos de referencia en América Latina y el Caribe. pp 373 – 377. Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable.
- Acuña Rodríguez, I. S. (2013). Biología Reproductiva Y Dinámicas Poblacionales De La Yareta (Azorella Madreporica). Proyecto PASCUA-LAMA. Informe General Consolidado 2010 – 2013. Doctorado En Biología Y Ecología Aplicada, Universidad De La Serena – Universidad Católica Del Norte – CEAZA.
- Alcaraz Ariza, F. J. (2013). El método fitosociológico. <https://www.um.es/docencia/geobotanica/ficheros/tema11.pdf>.
- Alford, E. R. Pilon-Smits, E. A. H. Paschke, M. W. (2010). Metallophytes – a view from the rhizosphere. *Plant Soil*, 337, pp 33–50.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), pp 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>.
- Barbour, M. G. (1968). Germination requirements of the desert shrub *Larrea divaricata*. *Ecology*, 49. (5) pp. 915:926.
- Beider, A. (2012). Viverización de Especies Nativas de Zonas Áridas. EXPERIMENTIA-Revista de Transferencia Científica. Editor: Dr. A. D. Dalmaso. Grupo de geobotánica y Fitogeografía - IADIZA – CONICET. ISSN 1853-905X.
- Branzini, A. (2014). Remediación biótica y abiótica de un suelo contaminado con cobre, cinc y cromo. Monitoreo biológico. Tesis de Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires, Argentina.
- Braun-Blanquet J. (1979). Bases para el estudio de las comunidades vegetales. Fitosociología. Ed. BLUME, Madrid.
- Ceccon, E., Pérez, D. R. (2016). Más allá de la ecología de la restauración: perspectivas sociales en América Latina y el Caribe Sociedad Iberoamericana y del Caribe de Restauración Ecológica Editorial Vázquez Mazzini, pp 382. <http://www.siacre.com.co/articulos/02.pdf>.
- Correa, M. N. (1999). Flora Patagónica. Parte VI. Dicotyledones. Gamopétalas (Ericaceae a Calyceraceae). Colección Científica del INTA. Buenos Aires. pp 536.
- Cunningham, S. D., Berti, W. R., Huang, J. W. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, 13(9), pp 393–397. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)88987-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)88987-8).
- Duarte Torres, O., Velho, L. (2009). Capacidades científicas y tecnológicas de Colombia para adelantar prácticas de bioprospección. *Revista Iberoamericana de Ciencia, Tecnología y Sociedad – CTS*. 4(12),55-68. Centro de Estudios sobre Ciencia, Desarrollo y Educación Superior Buenos Aires, Argentina. ISSN: 1668-0030.
- Ebbs, S. D., Kochian L. V. (1997). Toxicity of zinc and copper to Brassica species: implications for phytoremediation. *Environ Qual* 26, pp 776–781.



- Elechosa, M. A. (2009). Manual de recolección sustentable de plantas aromáticas nativas de la región central y noroeste de la Argentina. Proyecto Específico PNHFA4164: Desarrollo de tecnologías innovativas para la exploración, conservación, evaluación y utilización de plantas aromáticas nativas. IRB-CIRN-INTA Castelar.
- Godoy-Bürki, A. C. (2015). Diversidad de plantas vasculares en zonas áridas del Noroeste de Argentina (NOA): Patrones de Distribución, Prioridades de Conservación y Cambio climático. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Gold, K., P. León-Lobos., M. Way. (2004). Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110, pp 62.
- Lal, K., Minhas, P. S., Shipra, Chaturvedi, R. K., Yadav, R. K. (2008a). Extraction of cadmium and tolerance of three annual cut flowers on Cd-contaminated soils. Bioresour. Technol. 99, pp 1006–1011.
- Méndez, P., Ramírez, G., César, A., Gutiérrez, R., Alma, D., García, P. (2008). Plant Contamination and Phytotoxicity Due To Heavy Metals From Soil and Water. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10(1), pp 19–44.
- Negrin, V. L., Zalba, S. M. (2008). Germinación de *Grindelia ventanensis* (asteraceae), una especie endémica del sistema de Ventania (Buenos Aires). Bol. Soc. Argent. Bot. 43 (3-4), pp 261 - 267. ISSN 0373-580 X.
- Pandey, V. C. (2013). Suitability of *Ricinus communis* L. cultivation for phytoremediation of fly ash disposal sites. Ecol. Eng. 57, pp 336-341.
- Pandey, V. C. (2012). Invasive species based efficient green technology for phytoremediation of fly ash deposits. J. Geochem. Explor. 123, pp 13-18.
- Pandey, V. C., Pandey, D. N., Singh, N. (2015a). Sustainable phytoremediation based on naturally colonizing and economically valuable plants. J. Clean. Prod. 86, pp 37-39.
- Peano, A. (2016). Producción de plantines de calidad de *Larrea divaricata* (Cav.) Para proyectos de restauración ecológica. Tesis de grado: Lic. en Saneamiento y Protección Ambiental. Facultad de Ciencias del Ambiente y La Salud, Universidad Nacional del Comahue.
- Perelman, S. B., Batista, W. B., León, R. J. C. (2005). El estudio de la heterogeneidad de la vegetación. Fitosociología y técnicas relacionadas. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. CONICET. <https://www.agro.uba.ar/users/batista/science/pdf/perelmanetal05.pdf>
- Pérez, D. R., Rovere, A. E., Rodríguez Araujo, M. E. (2013). Restauración ecológica en la diagonal árida de la Argentina. Vázquez Mazzini Editores. pp 520. ISBN:978-987-9132-40-1.
- Peter, G., Leder, C. V., Funk, F. A. (2016). Effects of biological soil crust and water availability on seedlings of three perennial Patagonian species. Journal of Arid Environments, pp 122-126. ISSN 0140-1963, <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.10.015>.
- Puschenreiter, M., Gruber, B., Wenzel, W. W., Schindlegger, Y., Hann, S., Spangl, B., Schenkeveld, W. D. C., Kraemer, S. M., Oburgera, E. (2017). Phytosiderophore-induced mobilization and



- uptake of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn by wheat plants grown on metal-enriched soils. *Environmental and Experimental Botany*, 138, pp 67-76.
- Rao, N. K., Hanson J., Dulloo M. E., Ghosh K., Novell D., Larinde M. (2007). Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. *Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8*. Bioersivity International, Roma, Italia.
- Salazar, M. J., Pignata, M. L. (2014). Lead accumulation in plants grown in polluted soils. Screening of native species for phytoremediation. *Journal of Geochemical Exploration* 137, pp 29–36.
- Thangavel, P., Subbhuraam, C. (2004). Phytoextraction: role of hyperaccumulators in metal contaminated soils. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B* 70, pp. 109–130.
- Troiani, H. O. Steibel, P. E. (1999). Sinopsis de las Compuestas (Compositae Giseke) de la provincia de La Pampa, República Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam.* 1, pp 1-86.
- Troncoso, C. G., Green, D., Reinoso, F. (2020). Experiencia en la propagación de llareta (*Azorella compacta* phil., apiaceae), en Collahuasi, comuna de Pica, región de Tarapacá, Chile. *Chloris Chilensis* 23 (1): pp 148-159.
- United States Enviromental Protection Agency (2000). Introduction to Phytoremediation. U.S. Environ. Prot. Agency, 1–72. doi:EPA/600/R-99/107.
- Varela, S. A., Arana, V. (2010). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Serie técnica: “Sistemas Forestales Integrados” Área Forestal - INTA EEA Bariloche.
- Vargas Aragon, X. I. (2012). Capacidad de absorción de Plomo del girasol ornamental (*Helianthus annuus* L.) con la adición de ácidos húmicos de leonardita. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agronomo en Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Verma, S. K., Singh, K., Gupta, A. K., Pandey, V. C., Trivedi, P., Verma, R. K., et al. (2014). Aromatic grasses for phytomanagement of coal fly ash hazards. *Ecol. Eng.* 73, pp 425-428.



## Instituciones participantes



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)  
Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)