



Evaluación de la fitotoxicidad de un lixiviado de Relleno Sanitario sobre *Phaseolus vulgaris* L y supervivencia de microorganismos de importancia sanitaria
Evaluation of the phytotoxicity of Landfill leachate on *Phaseolus vulgaris* L and survival of microorganisms of public health importance

García-Ortiz Vanessa Ruby^{1,2}, Márquez-Benavidez Liliana² Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo, F J Mujica S/N, Felicitas del Río, 58000, Morelia, Mich, México.

²Laboratorio Medio Ambiente y Manejo de Residuos Sólidos, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo, F J Mujica S/N, Felicitas del Río, 58000, Morelia, Mich, México.

***Dirección de contacto:**

Juan Manuel Sánchez-Yáñez:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich, México.

E-mail address : syanez@umich.mx

Palabras clave:

Lixiviado,
bioensayo vegetal,
alcalinidad,
supervivencia microbiana.

J. Selva Andina Res. Soc.
2015; 6(2):51-63.

Historial del artículo.

Recibido marzo, 2015.
Devuelto mayo 2015
Aceptado julio, 2015.
Disponible en línea, agosto, 2015.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Resumen

En relleno sanitario la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos genera un lixiviado (LX), mezcla química inorgánica e orgánica contaminante ambiental para definir el Índice de Contaminación de Lixiviado (ICL), el cual apoyado en modelo vegetal daría certeza del efecto negativo del LX. Además incluir la detección de microorganismos patógenos humanos (MPH) y bacterias mesófilas aerobias totales (BMAT) diferentes a coliformes fecales y totales tendría valor sanitario. Los objetivos del trabajo fueron: i) analizar la fitotoxicidad de un LX en *Phaseolus vulgaris*, ii) detectar la existencia en el LX de MPH y BMAT. Con un bioensayo "in vitro" en cajas Petri y en Jarra de Leonard con semillas de *P. vulgaris* tratadas con LX a distintas concentraciones. Las variables respuesta del bioensayo fueron: porcentaje de germinación, fenología: altura de planta y longitud de raíz y biomasa: peso fresco y seco aéreo y radical y la detección de los MPH y BMAT. Los datos experimentales se analizaron por Tukey $p < 0.05$. Los resultados indicaron una inhibición y/o estimulación del crecimiento *P. vulgaris* en función de la composición química y dilución del LX, por el efecto tóxico de sus metales pesados y alcalinidad extrema que evitaron la supervivencia de los MPH, pero no de las BMAT. Se concluye que un bioensayo con *P. vulgaris* define el grado de beneficio o toxicidad de un LX, y da validez al ICL. Mientras que es necesario investigar la importancia de BMAT en LX y su potencial de contaminación biológica ambiental.

© 2015. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

In landfill, the organic fraction of municipal solid waste generated leachate (LE), a chemical inorganic and organic mix an environmental pollutant to determine by Leachate Pollution Index (LPI). A bioassay could give certainty to its negative effect. To include pathogenic human microorganisms (PHM) and mesophilic total aerobic bacteria (MATB) different than fecal and total coliforms would have health value. The objectives of this research were i) analyzed the phytotoxicity of leachate on *Phaseolus vulgaris* and ii) to detect in LE the existence of HPM and MATB. A bioassay "in vitro" was made in Petri dishes and Leonard jars using seeds *P. vulgaris* treated by diluted leachate. The response variables of bioassay were: germination percentage, phenotype: plant height and root length, biomass total: fresh and dry weight of root and plant. Including HPM and MATB detection. Experimental data was analyzed by Tukey $p < 0.05$. The results indicated that LE caused inhibition and/or stimulation on *P. vulgaris*; Leachate's phytotoxicity was depending on its chemical composition and level dilution, this suggests that toxic effect is due its heavy metals and extreme alkalinity, killing HPM in leachate but not MATB. A bioassay *P.*

Key words:

Leachate,
plant bioassay,
alkalinity,
microbial survival.

vulgaris is useful to define degree of beneficial and/or toxicity of LE, and validate LPI. While is important to know the role of HPM in LE and potential environmental biological contamination.

© 2015. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

En México la disposición legal y final de los residuos sólidos urbanos (RSU) derivados de la actividad doméstica y comercial son los rellenos sanitarios (RESA) según la NOM-083-SEMARNAT 2003, en donde la degradación anaeróbica de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU) genera un líquido contaminante llamado lixiviado (LX) (Colmenares & Santos 2007), cuyos ácidos como el acético, el láctico y el fórmico disuelven los metales pesados de las aleaciones en los RSU, en consecuencia en exceso se generan sales minerales y NH_4 (amonio) que son tóxicos para la vida (Sánchez-Yáñez *et al.* 2006). En general un LX se considera de riesgo ambiental negativo, el cual puede ser estimado por el Índice de Contaminación de Lixiviado (ICL) con base en sus propiedades fisicoquímicas (Guerrero-Rodríguez *et al.* 2014), mostradas en la tabla 1, aunque éstas no necesariamente indican con precisión el daño del LX para la vida animal o vegetal. Una opción adecuada para evaluar con certeza el impacto de un LX, podría ser bioensayos con plantas que pronostiquen con seguridad el posible efecto negativo en el ciclo de vida vegetal (Thomas *et al.* 1986). Con base a lo anterior se reportó que un LX fue fitotóxico a *Lemna minor* por su alto valor de salinidad y alcalinidad, consecuencia de la elevada concentración de NH_4 . Al igual que otro LX tuvo un toxicidad en el crecimiento de *Brassica chinensis*, *Lolium perenne*, *Salix amygdalina*, *Lactuca sativa*, *Lepidium sativum*, y *Phaseolus vulgaris* al inhibir la germinación de sus semillas y sano

crecimiento (Clément & Bouvet 1993, Cheng & Chu 2006)

Otro aspecto de un LX que tendría importancia sanitaria complementaria para evaluar su riesgo para la salud humana y el ambiente es la recuperación de microorganismos patógenos humanos (MPH) oportunistas, así como de las bacterias mesófilas aerobias totales (BMAT) indicadoras de la concentración de oxígeno (O_2) y agentes químicos biocidas y no solo los entéricos específicos señalados en la NOM-112-SSA1-1994 como los coliformes fecales totales. De acuerdo con normas establecidas para el análisis de un LX se realiza la caracterización fisicoquímica, mientras en relación al aspecto microbiológico solo se detectan los coliformes fecales y totales. Sin embargo dado que los MPH y las BMAT son comunes en los desechos hospitalarios y/o de rastros por su inadecuada disposición final lo que permite que ambos tipos microbianos sean depositados en un RESA (Flores-Tena *et al.* 2007). Por lo anterior los objetivos de este trabajo fueron: i) analizar la fitotoxicidad de un LX de un RESA en *Phaseolus vulgaris* L, ii) demostrar en el LX la existencia de MPH y BMAT diferentes a los coliformes totales y fecales.

Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Mi-

choacana de San Nicolás de Hidalgo en Morelia,

Michoacán México.

Tabla 1 Índice de Contaminación del lixiviado de Toluca del Relleno Sanitario del municipio de Zinacantepec estado de México, México

| Contaminante | Significancia | TOLUCA | | | |
|-------------------------------|---------------|----------|---|--------------------------|---|
| | | Valor | Peso del contami- nante (<i>w_i</i>) | (<i>p_i</i>) | (<i>p_i</i>) (<i>w_i</i>) |
| pH | 3.509 | 8.5* | 0.055 | 5 | 0.275 |
| Sólidos disueltos totales | 3.196 | 11,790.0 | 0.05 | 24 | 1.2 |
| Demanda bioquímica de oxígeno | 3.902 | 1,032.0 | 0.061 | 28 | 1.708 |
| Demanda química de oxígeno | 3.963 | 1,084.7 | 0.062 | 44 | 2.728 |
| Total Nitrógeno Kjeldhal | 3.367 | 1,792.0 | 0.053 | 63 | 3.339 |
| Nitrógeno Amoniacal | 3.25 | 1,095.2 | 0.051 | 100 | 5.1 |
| Hierro Total | 2.83 | 15.692 | 0.045 | 5 | 0.225 |
| Cobre | 3.17 | 0.008 | 0.05 | 5 | 0.25 |
| Níquel | 3.321 | 0.354 | 0.052 | 5 | 0.26 |
| Zinc | 3.585 | 0.38 | 0.056 | 5 | 0.28 |
| Plomo | 4.019 | 0.14 | 0.063 | 5 | 0.315 |
| Cromo total | 4.057 | 0.468 | 0.064 | 5 | 0.32 |
| Mercurio | 3.923 | 0.002 | 0.062 | 5 | 0.31 |
| Arsénico | 3.885 | 1.89 | 0.061 | 5 | 0.305 |
| Compuestos fenólicos | 3.627 | ND | 0.057 | - | - |
| Cloruros | 3.078 | 3,349.0 | 0.048 | 27 | 1.296 |
| Cianuros | 3.694 | 0.025 | 0.058 | 5 | 0.29 |
| Coliformes Totales | 3.289 | ND | ND | ND | ND |
| TOTAL | | 0.943 | 0.948 | | 18.21 |
| | | | ICL = 19.30 | | |

*Todos los valores en mg/L excepto el pH, ND= No detectable

(Guerrero *et al.* 2014)

El LX fue proporcionado por el Instituto Tecnológico de Toluca obtenido del RESA en el municipio de Zinacantepec Estado de México, México. Situado en el ejido de San Luis Mextepec en el km 11.5 de la carretera Toluca-Zitácuaro, Zinacantepec se localiza en la porción occidental del valle de Toluca a los 19°17'00" de latitud norte y a los 99°44'00" de longitud oeste del meridiano de Greenwich. Limita al norte con Almoloya de Juárez, al sur con Texcaltitlán, al este con Toluca y Calimaya, al oeste con Temascaltepec y Amanalco de Becerra, al sureste con Villa Guerrero y Coatepec Harinas. Del LX de Toluca se obtuvo una sub muestra simple de la descarga correspondiente a la fosa de la celda 1 del RESA en estudio y se utilizó un camión tipo pipa como recipiente de muestreo (propiedad de la empresa), que colectó la muestra mediante bombeo de

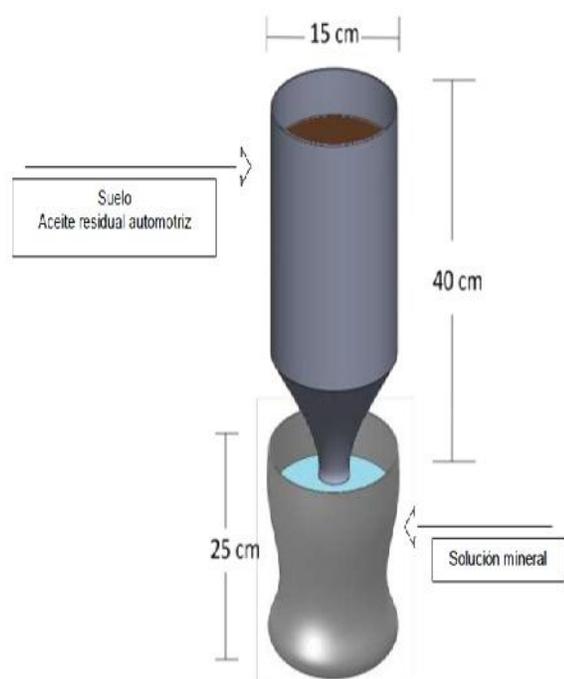
la laguna de lixiviados de la celda. Se colectaron 20 L de LX, transportado y almacenado en garrafas de plástico a 4° C. La toma de muestra del LX se realizó en base a los lineamientos de la norma NMX-AA-003-1980.

El bioensayo del LX en *P. vulgaris* se realizó mediante un diseño experimental con 8 tratamientos y 5 repeticiones con 4 semillas de *P. vulgaris* y las variedades: Bayo, Flor de Junio, Negro y Peruano equivalente a una densidad de siembra de 80000 plantas por hectárea recomendado para la región centro de México (Osuna-Ceja *et al.* 2012). Estas semillas que se trataron con el LX diluido con agua destilada al 6.25, 12.5, 25, 50, 75 y 100% éste último sin diluir; además se comparó con el mismo *P. vulgaris* usado como control relativo (CR) alimen-

tado con una solución mineral y *P. vulgaris* irrigado solo con agua potable como control absoluto (CA).

En un segundo bioensayo con *P. vulgaris* var. Flor de Junio en jarras de Leonard (figura 1) se trató con el LX diluido con agua destilada: 25, 50, 75 y 100% este último sin diluir, hasta el nivel de plántula y floración. La evaluación de las variables respuesta fueron basadas en su fenología: altura de planta y longitud de raíz y su biomasa: peso fresco aéreo (PFA) y radical (PFR); peso seco aéreo (PSA) y seco radical (PSR) (García-González *et al.* 2005) Los datos experimentales se analizaron por Tukey $p < 0.05$.

Figura 1 Diagrama de diseño de una jarra de Leonard (Meza-Ramírez, 2014)



Mientras que el análisis microbiológico del LX se realizó para detectar: *Pseudomonas aureginosa* (Sánchez-Yáñez 2007), hongos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias totales, coliformes totales y fecales y *Vibrio cholerae* de acuerdo con las normas vigentes en México NOM-111-SSA1-1994, NOM-092-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-1994 y Norma ISO 21872-1: 2007.

Resultados

Efecto fitotóxico del lixiviado en la germinación de *Phaseolus vulgaris* L. variedades: Bayo, Flor de Junio, Negro y Peruano.

En la tabla 2 se muestra el porcentaje de germinación que se usó como variable respuesta del efecto del LX en *P. vulgaris* así como en la aparición del embrión y la reducción de la longitud del primordio del tallo y raíz por la fitotoxicidad de sus metales y alcalinidad extrema cuando el LX se aplicó concentrado al 100%.

Efecto fitotóxico del lixiviado de en la fenotipia y biomasa de *Phaseolus vulgaris* variedades: Flor de Junio, Bayo, Negro y Peruano.

En la tabla 3 se muestra que el LX desde el 25 al 100% fue fitotóxico para el crecimiento de *P. vulgaris* var. Flor de Junio a nivel de su primordio de raíz. Los valores numéricos registrados en *P. vulgaris* var. Flor de junio tratado con el LX diluido fueron estadísticamente diferentes comparados con los valores de *P. vulgaris* var. Flor de junio del CR. El LX fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Flor de junio en concentración del 6.25% en su PFA con 1.04 mg, valor numérico con diferencia estadística con el PSA y el PSR En *P. vulgaris* var. Flor de junio sus valores numéricos de la biomasa en respuesta al LX mostraron una diferencia estadística significativa comparados con los valores de 1.49 mg del PFA de *P. vulgaris* var. Flor de junio usado como CR, aunque en este caso el LX fue fitotóxico solo a partir del 75% (Figura 2). Los valores numéricos de este ensayo de *P. vulgaris* con el LX tuvieron una diferencia estadística comparados con los mismos parámetros de *P. vulgaris* usado como CR alimentado con una solución mineral (Figura 3).

Tabla 2 Efecto del lixiviado en el porcentaje (%) de germinación de *Phaseolus vulgaris* L. variedades: Bayo Flor de Junio Negro y Peruano

| Tratamiento | <i>P. vulgaris</i> | | | |
|------------------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Bayo | Flor de Junio | Negro | Peruano |
| Control absoluto | (+)95 ^{a*} | 80 ^a | 95 ^a | 100 ^a |
| Control relativo | 90 ^a | 80 ^a | 85 ^a | 100 ^a |
| 6.25 | 100 ^a | 100 ^a | 80 ^a | 90 ^a |
| Porcentaje de la dilución de | 12.5 | 100 ^a | 100 ^a | 90 ^a |
| Lixiviado de | 25 | 100 ^a | 90 ^a | 50 ^b |
| Toluca | 50 | 85 ^a | 80 ^a | 70 ^c |
| | 75 | 80 ^a | 0 ^b | 0 ^d |
| | 100 | 0 ^b | 0 ^b | 0 ^d |

(+) = Comparación de medias usando prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$), (*) = letras distintas con diferencia estadística significativa



Figura 2 Efecto fitotóxico del lixiviado de Toluca al 75% al inhibir la germinación de *Phaseolus vulgaris* L. Var. Flor de Junio



Figura 3 Primordios tallo/raíz de *Phaseolus vulgaris* L. Var. Flor de Junio usado como control relativo alimentado con solución mineral



Figura 4 Efecto fitotóxico del lixiviado de Toluca al 100% al inhibir la germinación en *Phaseolus vulgaris* L. var. Bayo



Figura 5 Primordios tallo/raíz de *Phaseolus vulgaris* L. var. Bayo usado como control relativo alimentado con solución mineral

El LX fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Bayo a partir de la dilución al 6.25% en su altura del primordio del tallo con 11.50 cm, valor con diferencia estadística comparado con el mismo valor del primordio del tallo de *P. vulgaris* var. Bayo usado como CA con 17.01 cm. El LX diluido al 50% fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Bayo pues le causó una disminución en la longitud de su primordio de raíz con 3.35 cm, valor que comparado con de la longitud del primordio de raíz de *P. vulgaris* var. Bayo usado como CR fue de 13.81 cm; en tanto que el LX diluido al 75% fue fitotóxico para esta variedad en su PFA con 0.70 mg y en el PFR con 0.18 mg, dado que estos valores fueron estadísticamente diferentes inferiores comparados con el PFA de 1.62 mg y en su PFR con 0.45 mg *P. vulgaris* var. Bayo usado como CR. El LX concentrado al 100% fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Bayo (figura 4) al inhibir por completo la germinación comparado con *P. vulgaris* var. Bayo CR (Figura 5).

El LX fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Negro desde la dilución al 50% en su altura del primordio del tallo de 6.28 cm y su longitud del primordio de raíz con 3.87 cm (Figura 6), en ambos casos se observó una inhibición de su crecimiento en comparación con el primordio del tallo de 9.95 cm y en la longitud de la raíz de 14.4 cm en *P. vulgaris* var. Negro usado como CR (figura 7). *P. vulgaris* var. Negro fue sensible a la fitotoxicidad del LX a partir de su dilución del 75% en su PFA, y desde el 6.25% al 100% en su PFR; en tanto que el LX desde el 75 al 100% provocaron la disminución en su PSA, al igual que el LX desde la dilución del 50 al 100% en su PSR.

El LX en *P. vulgaris* var. Peruano al 25% fue fitotóxico al inhibir la altura del primordio del tallo que registro 8.0 cm, al igual que en su longitud del primordio de raíz con 9.92 cm, estos valores mostraron una diferencia estadística, en comparación con los mismos valores de *P. vulgaris* var. Peruano usado como CA en su altura del primordio del tallo con

27.54 cm y su longitud del primordio de raíz con 17.83 cm. Mientras que el LX a partir del 50% inhibió totalmente la germinación de la semilla de *P. vulgaris* var. Peruano (Figura 8) valor con diferencia estadística en comparación con el valor de *P. vulgaris* var. Peruano utilizado como CA (Figura 9).

El LX en *P. vulgaris* var. Peruano fue fitotóxico a partir de la dilución al 6.25% en su PFA con 1.79 mg y en su PFR con 0.22 mg, ambos valores tuvieron diferencia estadística comparados con los valores análogos de *P. vulgaris* var. Peruano en su PFA con 1.89 mg y con PFR de 0.3 mg.

Tabla 3 Efecto del lixiviado en la fenología y biomasa del primordio de tallo y raíz de *Phaseolus vulgaris* L. variedades: Flor de Junio, Bayo, Negro y Peruano

| Tratamiento | Fenotipia (cm) | | Biomasa (mg) | | | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| | Altura del primordio del tallo | Longitud del primordio de raíz | Peso fresco aéreo | Peso fresco radical | Peso seco aéreo | Peso seco radical |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> var. Flor de junio | | | | | | |
| Control relativo | +11.09 ^{a*} | 11.65 ^a | 1.49 ^a | 0.21 ^a | 0.19 ^a | 0.02 ^a |
| Control absoluto | 11.23 ^a | 12.76 ^a | 1.47 ^a | 0.24 ^a | 0.18 ^a | 0.02 ^a |
| 6.25 | 9.33 ^{ab} | 10.82 ^a | 1.04 ^b | 0.15 ^a | 0.18 ^a | 0.01 ^a |
| % | 12.5 | 8.45 ^{ab} | 10.95 ^a | 0.96 ^b | 0.22 ^a | 0.21 ^a |
| Lixiviado | 25 | 7.16 ^{ab} | 6.36 ^b | 0.92 ^b | 0.13 ^a | 0.21 ^a |
| Toluca | 50 | 5.28 ^b | 4.34 ^b | 0.81 ^b | 0.17 ^a | 0.23 ^a |
| | 75 | --- | --- | --- | --- | --- |
| | 100 | --- | --- | --- | --- | --- |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> var. Bayo | | | | | | |
| Control relativo | 15.26 ^{ab} | 13.81 ^a | 1.62 ^a | 0.45 ^a | 0.12 ^d | 0.01 ^{ab} |
| Control absoluto | 17.01 ^a | 11.75 ^a | 1.82 ^a | 0.40 ^{abc} | 0.15 ^{cd} | 0.03 ^a |
| 6.25 | 11.50 ^{bc} | 13.32 ^a | 1.90 ^a | 0.42 ^{ab} | 0.20 ^{bc} | 0.02 ^{ab} |
| % | 12.5 | 8.54 ^c | 14.78 ^a | 1.39 ^{ab} | 0.27 ^{abcd} | 0.25 ^{ab} |
| Lixiviado | 25 | 7.06 ^c | 15.49 ^a | 1.42 ^{ab} | 0.11 ^d | 0.24 ^{ab} |
| Toluca | 50 | 2.17 ^d | 3.35 ^b | 0.64 ^b | 0.12 ^{cd} | 0.25 ^{ab} |
| | 75 | 2.20 ^d | 1.55 ^b | 0.70 ^b | 0.18 ^{bcd} | 0.29 ^a |
| | 100 | --- | --- | --- | --- | --- |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> var. Negro | | | | | | |
| Control relativo | 8.5 ^a | 12.79 ^a | 0.94 ^a | 0.21 ^a | 0.11 ^a | 0.01 ^{ab} |
| Control absoluto | 9.95 ^{ab} | 14.94 ^a | 1.08 ^a | 0.23 ^a | 0.16 ^a | 0.02 ^a |
| 6.25 | 10.11 ^a | 10.86 ^a | 1.11 ^a | 0.07 ^b | 0.11 ^a | 0.01 ^{ab} |
| % | 12.5 | 6.73 ^{ab} | 11.0 ^a | 0.94 ^a | 0.06 ^b | 0.13 ^a |
| Lixiviado | 25 | 8.69 ^{ab} | 11.1 ^a | 0.98 ^a | 0.13 ^b | 0.16 ^a |
| Toluca | 50 | 6.28 ^b | 3.87 ^b | 0.77 ^a | 0.06 ^b | 0.16 ^a |
| | 75 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| | 100 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> var. Peruano | | | | | | |
| Control relativo | 11.91 ^{ab} | 10.7 ^b | 1.45 ^{ab} | 0.16 ^b | 0.21 ^a | 0.02 ^a |
| Control absoluto | 27.54 ^a | 17.83 ^a | 1.89 ^a | 0.37 ^a | 0.24 ^a | 0.02 ^a |
| 6.25 | 12.13 ^{ab} | 15.11 ^{ab} | 1.79 ^{ab} | 0.22 ^b | 0.25 ^a | 0.03 ^a |
| % | 12.5 | 12.14 ^{ab} | 15.0 ^{ab} | 1.67 ^{ab} | 0.13 ^b | 0.25 ^a |
| Lixiviado | 25 | 8.0 ^b | 9.92 ^b | 1.29 ^b | 0.11 ^b | 0.27 ^a |
| Toluca | 50 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| | 75 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| | 100 | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |

(+) = Comparación de medias con prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$), (*) = letras distintas con diferencia estadística significativa. (-) = sin germina.

Tabla 4 Efecto del lixiviado en *Phaseolus vulgaris* L. var. Flor Junio en su fase de plántula y floración

| Tratamiento | Fenotipia (cm) | | Biomasa (g) | | | |
|---------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | Altura de la planta | Longitud radical | Peso fresco aéreo | Peso fresco radical | Peso seco aéreo | Peso seco radical |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> a plántula | | | | | | |
| Control relativo | +53.2 ^{ap} | 28.3 ^{a*} | 5.6 ^a | 1.9 ^a | 0.4 ^a | 0.1 ^a |
| % Lixiviado Toluca | | | | | | |
| 25 | 60.0 ^a | 20.2 ^a | 5.2 ^a | 0.9 ^a | 0.3 ^a | 0.06 ^a |
| 50 | 60.4 ^a | 21.1 ^a | 4.8 ^a | 0.7 ^b | 0.3 ^a | 0.04 ^b |
| 75 | 56.7 ^a | 18.5 ^{b*} | 4.0 ^a | 0.4 ^b | 0.3 ^a | 0.03 ^b |
| 100 | 48.7 ^a | 14.7 ^b | 2.8 ^a | 0.2 ^b | 0.2 ^b | 0.02 ^b |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> a floración | | | | | | |
| Control relativo | 49.5 ^a | 34.2 ^a | 11.5 ^{b*} | 4.0 ^a | 2.1 ^b | 0.4 ^a |
| % Lixiviado Toluca | | | | | | |
| 25 | 45.8 ^a | 32.0 ^a | 11.3 ^b | 2.1 ^b | 2.9 ^{ab} | 0.3 ^a |
| 50 | 47.5 ^a | 35.4 ^a | 23.8 ^{a*} | 5.4 ^a | 6.5 ^a | 0.6 ^b |
| 75 | 42.7 ^a | 34.7 ^a | 21.4 ^b | 4.6 ^a | 2.5 ^b | 0.3 ^a |
| 100 | 43.6 ^a | 33.9 ^a | 17.8 ^{ab} | 2.8 ^a | 4.5 ^a | 0.2 ^a |

(+) = Comparación de medias con prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$), (*) = letras distintas con diferencia significativa diferente.



Figura 6 Efecto fitotóxico del lixiviado al 50% al inhibir el desarrollo del tallo y raíz de *Phaseolus vulgaris* L. var. Negro



Figura 7 Primordios tallo/raíz de *Phaseolus vulgaris* L. var. Negro usado como control relativo alimentado con solución mineral



Figura 8 Efecto fitotóxico del lixiviado al 50% al inhibir la formación del primordio del tallo y la raíz *Phaseolus vulgaris* L. var. Peruano.



Figura 9 Primordios tallo/raíz de *Phaseolus vulgaris* L. var. Peruano usado como control absoluto

Efecto fitotóxico del lixiviado de en Phaseolus vulgaris var. Flor de Junio a plántula y floración. El LX al 25, 50, 75 y 100% en *P. vulgaris* var. Flor de junio no causó daño en su altura con valores sin diferencia estadística en comparados con los correspondientes a la altura de *P. vulgaris* var. Flor de Junio usado como CR, aunque el LX a partir de la dilución al 75% fue fitotóxico para *P. vulgaris* var. Flor de junio en su longitud radical con 18.5 cm, valor con diferencia estadística en comparación con el valor de 28.3 cm de la longitud radical de *P. vulgaris* del CR. El LX tuvo un efecto positivo en el PFA de *P. vulgaris* var. Flor de Junio dado que el mismo valor del PFA de *P. vulgaris* del CR no fue estadísticamente diferente. Mientras que el LX a partir de la dilución al 50% fue fitotóxico para *P.*

vulgaris en su PFR con 0.7 g, al igual que en su PSR con 0.04 g en comparado con el PFR de 1.9 g y el PSR con 0.1 g de *P. vulgaris* var. Flor de Junio usado como CR. Se registró un efecto positivo del LX en la fenología y biomasa de *P. vulgaris* var. Flor de Junio en la etapa de floración con las diluciones del LX al 25, 50, 75 y 100% en principio en su altura de planta, equivalente a la aplicación de un fertilizante químico en balance dado que los valores registrados en esta variable fenológica no mostraron diferencia estadística comparados con la fenología y biomasa de *P. vulgaris* var. Flor de Junio usado como CR (tabla 4).

Análisis microbiológico del lixiviado. El análisis microbiológico del LX fue negativo para la detección de hongos y/o levaduras, no se demostró la

supervivencia de *V. cholerae* y *P. aureginosa* ambos MPH, como tampoco de los coliformes totales ni fecales. Entre tanto se detectaron 292.5 UFC/mL de BMAT evidentemente tolerantes a la alcalinidad y al efecto oligodinámico de sus metales pesados del LX. Este hecho es importante porque independientemente del origen de ese grupo mesófilo aerobio ya sea la descomposición de la fracción orgánica de los RSU, o por la manipulación del LX durante su colecta y análisis, representan en el LX un riesgo de contaminación no solo química sino ahora también biológica para agua superficial o subterránea que sean usados para consumo humano, animal o vegetal (Flores-Tena *et al.* 2007)

Discusión

El bioensayo en *P. vulgaris* var. Bayo Flor de junio Negro y Peruano en las primeras etapas de su crecimiento fue útil para dar certeza al ICL en el riesgo para la vida humana y el ambiente con un valor de 19.30 (Márquez-Benavides & Sánchez-Yáñez 2014). El LX fue más fitotóxico para *P. vulgaris* a nivel de los estadios fisiológicos plántula y floración, lo que apoya que es conveniente considerar no solo el ICL, también es recomendable emplear otras herramientas más sensibles a los agentes contaminantes del LX que los convencionales métodos fisicoquímicos en su evaluación de riesgo de LX para el ambiente (Guerrero-Rodriguez *et al.* 2014). El bioensayo del LX en *P. vulgaris* var. Flor de Junio se realizó para determinar el daño en un sistema biológico. Este LX en *P. vulgaris*, mostró un efecto negativo y/o positivo, con base al nivel de dilución y composición química en específica del LX, y especialmente en las diversas variedades de *P. vulgaris*, dado que el LX afectó negativamente las primeras etapas de crecimiento de la leguminosa, lo que

coincide con lo reportado por (Castillo 2004), que señaló que en un LX como parte de su composición química existen agentes fitotóxicos, como los metales pesados, causantes de la acción oligodinámica que bloquea la síntesis de proteínas involucradas en la terminación de la latencia de la semilla y que impide emergencia del embrión (Fiskesjo 1993, Ivanov *et al.* 2003, Floréz & Cotes 2006). Por ello cuando el LX se diluyó al máximo y empleo en *P. vulgaris* en especial a floración, el efecto fue positivo equivalente al de un fertilizante mineral en balance, lo que sugiere que este LX contenía los elementos minerales básicos que *P. vulgaris* requiere para un sano crecimiento. Lo anterior apoya que el efecto positivo/negativo del LX registrado en *P. vulgaris* en las diferentes variedades, así como la ausencia de los MPH y la existencia de las BMAT; fue dependiente de la composición y concentración de los componentes químicos del LX. Lo que sugiere que el LX tiene un doble potencial: uno como una mezcla de minerales que en función de su concentración y del estadio fisiológico de las variedades de *P. vulgaris* les causó desde la inhibición de la germinación de la semilla, lo que cambio al diluir el LX y tratar *P. vulgaris* a floración tuvo un efecto positivo, similar al reportado cuando se emplea un fertilizante inorgánico en balance (Utria *et al.* 2008).

Mientras el análisis microbiológico de este específico LX demostró que no había ningún MPH, lo que indica una actividad biocida de la concentración de sus metales pesados y de su elevada alcalinidad, como se ha sido reportado (Keswisk 1984, Lipták 1991, Tchobanoglous *et al.* 1993). En contraste con la concentración de BMAT de 292.5 UFC/mL que independientemente de que fue difícil establecer si eran o no parte original del LX desde el RESA; o que contaminaron el LX durante su colecta y análisis. Sin embargo este hecho mostro que en el LX, a

pesar de la concentración de los elementos tóxicos y el pH alcalino extremo, es posible la supervivencia de las BMAT, lo que indica que existe el riesgo de que por medio del LX, estos agentes biológicos sean dispersados a la par con los MPH, cuando contaminan el agua o suelo (Flores-Tena *et al.* 2007, Ávila 2014). Por lo cual es indispensable investigar la importancia del LX, como un factor de selección de microorganismos de importancia sanitaria, con características fisiológicas y posiblemente genéticas tanto como los MPH, no necesariamente expuestos a esta clase de presión fisicoquímicas selectiva en el RESA y en el LX, lo que representa un serio peligro para la salud humana, si un LX contamina aguas superficiales o subterráneas asociadas con el consumo humano y riego agrícola.

Con base a lo anterior se concluye que un bioensayo es una herramienta complementaria al ICL dándole certeza, pues el bioensayo con plantas es un método biológico de mayor sensibilidad a la detección de agentes químicos del LX, que el uso exclusivo del análisis cualitativos y cuantitativos de sus componentes. En tanto que es indispensable analizar la diversidad y capacidad de supervivencia de las MPH y BMAT en LX, con base en su composición química, lo que permitiría predecir el riesgo de que el LX, no solo cause problema de contaminación ambiental química si no también microbiológica.

Conflictos de intereses

Esta investigación no tiene conflictos de interés en relación con quien la realice y la apoyó.

Agradecimientos

Agradecimientos a los proyectos 2.7 y 5.15 (2015) de la CIC-UMSNH al CECTI-Michoacán, México

por la beca tesis a la primera autora, a BIONUTRA, S.A. de C.V, Maravatio, Mich, México.

Literatura citada

- Ávila LV. Respuestas fisiológicas de tres especies vegetales sembradas en humedales construidos expuestas a lixiviado de relleno sanitario. Tesis de licenciatura para obtener el título de bióloga. Universidad del Valle. Cali, Colombia. (Inédita). 2014.
- Castillo G. Ensayos ecotoxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, 1ª edición, Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo – CIID e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua – IMTA, México, DF, 2004; 188 pp.
- Cheng CY, Chu LM. Phytotoxicity data safeguard the performance of the recipient plants in leachate irrigation. *Environ Pollut.* 2006; 145: 192-202.
- Clément B, Bouvet Y. Assessment of landfill leachate toxicity using the duckweed *Lemna minor*. *Sci total Environ.* 1993; 41:1179-1190.
- Colmenares W, Santos K. Generación y manejo de gases en sitios de disposición final. Fases en la biodegradación de Residuos Sólidos. 2007. Disponible en: <http://www.ingenieriaquimica.org/system/files/relleno-sanitario.pdf>. Consultado: 16 de junio de 2014.
- Fiskesjö G. The Allium Test in Wastewater Monitoring. *Environ Toxicol Water Qua.* 1993; 8:291-298.
- Flores-Tena FJ, Guerrero-Barrera AL, Avelar-González FJ, Ramírez-López EM, Martínez-Saldaña MC. Pathogenic and opportunistic Gram-negative bacteria in soil, leachate and air

- in San Nicolás landfill at Aguascalientes, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol.* 2007; 49(1-2): 25-30.
- Floréz Y, Cotes A. Bioabsorción de metales pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del relleno sanitario Combeima Ibagué. Tumbaga. 2006; 1:89-100.
- García-González, M.M, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabriales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación de trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoam.* 2005; 23: 65-72.
- Guerrero-Rodríguez D, Sánchez-Yáñez JM, Buenrostro-Delgado O, Márquez-Benavides L. 2014. Phytotoxic Effect of Landfill Leachate with Different Pollution Indexes on Common Bean. *Water Air Soil Pollut.* 2014; 225(6):1-7.
- Ivanov VB, Bystrova EI, Seregin IV. Comparative impacts of heavy metals on root growth as related to their specificity and selectivity. *Russ J Plant Physiol.* 2003; 50: 398-406.
- Keswisk BH. Sources of groundwater pollution; In: *Groundwater Pollution Microbiology*. G. Bitton and C.P.Geba, Eds. Krieger, Malabar, Florida, USA. 1984; 39-64 pp.
- Lipták BG. Municipal waste disposal in the 1990's. Chilton, Radnor, Pennsylvania, USA. 1991; 23-43 pp.
- Márquez-Benavides L., y Sánchez-Yáñez J.M. Evaluación del Índice de Contaminación de Lixiviados de Relleno Sanitario y Efecto fitotóxico en la Germinación y Plántula de *Phaseolus vulgaris* L. *J Selva Andina Res Soc.* 2014; 5:13-23.
- Meza-Ramirez JY. Biorremediación de suelo contaminado con aceite residual automotriz al 4.0% por bioestimulación con lombricomposta, composta bovina y fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia*. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Morelia, Morelia, Michoacán, México (inédita). 2014.
- Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. - Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* ISO/TS 21872-1:2007.
- Norma Mexicana NMX-AA-003. Aguas residuales.-muestreo. Diario oficial de la federación. México. 1980.
- Norma Oficial Mexicana NOM-083-SEMARNAT. Especificaciones de protección ambiental para la selección del sitio, diseño, construcción, operación monitoreo, clausura y obras complementarias de un sitio de disposición final de residuos sólidos urbanos y de manejo especial. Diario oficial de la federación. México. 2003.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México. 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México. 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. México. 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-083-SEMARNAT. Especificaciones de protección ambiental para la selección del sitio, diseño, construcción, operación monitoreo, clausura y obras complementarias de un sitio de disposición final de residuos sólidos urbanos y de manejo especial. Diario oficial de la federación. México. 2003.

- Osuna-Ceja ES, Reyes-Muro L, Padilla-Ramírez JS, Martínez-Gamiño MA. Rendimiento de frijol Pinto Saltillo en altas densidades de población bajo temporal. *Rev Mex Cienc Agríc.* 2012; 3 (7): 1389-1400.
- Sánchez-Yáñez JM. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, CIDEM, Corporativo de Desarrollo Sustentable, Coordinación de La Investigación Científica. Morelia Mich, México. 2007. ISBN: 978-970-95424-1-7. 130-133, 136-138, 153-155 pp.
- Sánchez-Yáñez JM, Carrillo-Amezcuca JC, Manzo ZF, Leal-Lozano L. Una propuesta de gestión integral de residuos sólidos en el campus de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. 2006. http://www.monografias.com/trabajos33/gestion-residuos/gestion_residuos.shtml#ixzz34aNgmvBy.
- Tchobanoglous G, Theisen H, Vigil SA. Integrated solid waste management-Engineering principles and management issue. New York: McGraw-Hill. 1993.
- Thomas JM, Shalski JR, Cline JF, McShane MC, Simpson JC, Miller WE, *et al.* Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. *Environ Toxicol Chem.* 1986; 5:487-501.
- Utria-Borges E, Cabrera-Rodriguez J, Reynaldo-Escobar I, Morales-Guevara D, Fernández A, Toledo E. Utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*). *Rev Chapingo ser Hortic.* 2008; 14:33-99.
-